

UNIVERSITÉ DE CLERMONT-FERRAND
FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

Année 1969/1970

4 u

THÈSE

présentée et soutenue publiquement
le 26 Juin 1970
pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ
(PHARMACIE)

par

Claude-Marie JUILLARD

Pharmacien

née le 8 Novembre 1943 à Ydes (Cantal)

**CONTRIBUTION A L'ETUDE CRITIQUE ET EXPERIMENTALE
DES VARIATIONS ENZYMATIQUES AU NIVEAU DE L'OVAIRE
SOUS L'INFLUENCE DE L'ADMINISTRATION D'ANTIOVULATOIRES**

Président :
Monsieur DASTUGUE, Professeur

Membres du Jury :
Monsieur TURCHINI, Professeur
Monsieur BASTIDE, Professeur

UNIVERSITÉ DE CLERMONT-FERRAND
FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

Année 1969/1970

4 u

THÈSE

présentée et soutenue publiquement
le 26 Juin 1970
pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ
(PHARMACIE)

par

Claude-Marie JUILLARD

Pharmacien
née le 8 Novembre 1943 à Ydes (Cantal)

**CONTRIBUTION A L'ETUDE CRITIQUE ET EXPERIMENTALE
DES VARIATIONS ENZYMATIQUES AU NIVEAU DE L'OVAIRE
SOUS L'INFLUENCE DE L'ADMINISTRATION D'ANTIOVULATOIRES**

Président :
Monsieur DASTUGUE, Professeur

Membres du Jury :
Monsieur TURCHINI, Professeur
Monsieur BASTIDE, Professeur

Année 1989/1990

THESE

présentée et soutenue publiquement
le 20 Juin 1990
pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE
(PHARMACIE)

par

Claude-Marie JULIARD

Pharmacien
née le 8 Novembre 1963 à Ydes (Cantal)



CONTRIBUTION A L'ETUDE CRITIQUE ET EXPERIMENTALE
DES VARIATIONS ENZYMATIQUES AU NIVEAU DE L'OVARE
SOUS L'INFLUENCE DE L'ADMINISTRATION D'ANTIOXYDANTS

Président :
Monsieur DASTUC, Professeur

Membres du Jury :
Monsieur TURCHIN, Professeur
Monsieur BASTIDE, Professeur

Doyen : G. MEYNIEL

Assesseur : M. COULET

Doyen honoraire : M. CUVELIER

Directeur honoraire : M. MERLE

Professeurs honoraires : Mme BLANQUET - M. BUREAU
M. POMME - M. WILLEMIN-CLOG

I - PROFESSEURS TITULAIRES

MM.	BARRIER	Clinique Chirurgicale A
	BASTIDE	Chimie Biologique et Pharmacodynamie
	BAUDON	Clinique Obstétricale
	BERGER	Chimie Analytique
	BERGERON	Pathologie Médicale
	COULET	Botanique et Microbiologie
	CUVELIER	Hydrologie et Climatologie
	DASTUGUE	Biochimie Médicale
	DAUPHIN	Chimie Pharmaceutique et Toxicologie
	DELAGE	Anatomie Pathologique
	DUCHENE-MARULLAZ	Pharmacologie
	FEBVRE	Pharmacie Galénique
Mme.	GAILLARD	Physique Pharmaceutique
MM.	GERMAIN	Clinique Chirurgicale B
	GRAS	Clinique Médicale A
	JACQUEMET	Technique Chirurgicale
	JALLUT	Séméiologie Médicale
	LATAIX	Pathologie Chirurgicale
	MERCIER	Anatomie
	MEYNIEL	Biophysique Médicale
	MOLINA	Clinique Pneumo-Phtisiologique
	PETIT	Médecine Légale et Médecine Sociale
	POROT	Clinique Neurologique et Psychiatrique
	POURRAT	Matière Médicale
Mle.	RAMPON	Thérapeutique
MM.	ROUHER	Clinique Ophtalmologique
	TERRASSE	Clinique Médicale B
	THIEBLOT	Physiologie
	THOMAS	Clinique Oto-Rhino-Laryngologique
	TRONCHE	Pharmacie Chimique
	TURCHINI	Histologie et Embryologie
	VAURS	Bactériologie et Hygiène

II - PROFESSEURS TITULAIRES A TITRE PERSONNEL

MM.	ALFIERI	Biophysique Médicale
	CHAMPEIX	Médecine Légale et Médecine du Travail
	VIALLET	Electro-Radiologie

Doyen : M. MEYNIER
Assesseur : M. COULET

Doyen honoraire : M. COULET
Directeur honoraire : M. MERLE
Professeurs honoraire : Mme SCAVOUT - M. BUREAU
M. POMME - M. WILLEMEN-CLOS

I - PROFESSEURS TITULAIRES

M. BARRIER	Clinique Chirurgicale A
M. BASTIDE	Chimie Biologique et Pharmacodynamie
M. BAUDON	Clinique Obstétricale
M. BERGER	Chimie Analytique
M. BERGERON	Pathologie Médicale
M. COULET	Botanique et Microbiologie
M. COULET	Physiologie et Climatologie
M. DASTUGUE	Biologie Médicale
M. DUBOIS	Chimie Pharmacologique et Toxicologie
M. DUCHENE-MARILLAS	Anatomie Pathologique
M. FEVERE	Pharmacologie
M. GAILLARD	Pharmacie Galénique
M. GERMAIN	Physique Pharmacologique
M. GRAS	Clinique Chirurgicale B
M. JACQUET	Clinique Médicale A
M. JACUT	Technique Chirurgicale
M. LATAX	Sémiologie Médicale
M. MERCIER	Pathologie Chirurgicale
M. MEYNIER	Anatomie
M. MOLINA	Biophysique Médicale
M. PETIT	Clinique Pneumo-Phthisique
M. PORDT	Médecine Légale et Médecine Sociale
M. POURRAT	Clinique Neurologique et Psychiatrique
M. RAMON	Médecine Médicale
M. ROUER	Thérapeutique
M. TERRASSE	Clinique Ophtalmologique
M. THIBLOT	Clinique Médicale B
M. THOMAS	Physiologie
M. TRONCHE	Clinique Oto-Rhino-Laryngologique
M. TURCHINI	Pharmacie Chimique
M. VAURS	Histologie et Embryologie
	Bactériologie et Hygiène

II - PROFESSEURS TITULAIRES A TITRE PERSONNEL

M. ALFIERI	Biophysique Médicale
M. CHAMPET	Médecine Légale et Médecine du Travail
M. VIALLET	Electro-Radiologie

III - PROFESSEURS SANS CHAIRE

Mle. CHATONIER	Chimie Minérale et Minéralogie
MM. CLUZEL	Bactériologie
MENUT	Pédiatrie et Puériculture
PIGNIDE	Médecine Générale
Mme POURRAT	Matière Médicale

IV - MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

MM. ANDRAUD	Toxicologie
COUQUELET	Pharmacie Chimique
Mme MOINADE	Médecine Générale et Thérapeutique
Mme PETIT	Chimie Analytique
MM. RAYNAUD	Pédiatrie
VENRIES DE LAGUILLAUMIE	Anatomie Pathologique

V - AGREGES

MM. FOURRIER	Orthopédie
HOUDARD	Chirurgie Générale
JANNY	Neuro-Chirurgie
RENARD	Pneumo-Phtisiologie
TOURNILHAC	Neurologie et Psychiatrie

VI - DELEGUES DANS LES FONCTIONS DE MAITRES DE CONFERENCES

MM. BOUCHER	Physiologie
GENTOU	Biochimie Médicale
MALET	Histologie et Embryologie
MARCHEIX	Médecine Générale et Thérapeutique
PLAGNE	Cancérologie

Attaché Principal : M. BERTHON

Conservateur de la bibliothèque : M. ARCHIMBAUD

La Faculté décide que les opinions émises dans les travaux et mémoires présentées à l'occasion d'une soutenance de thèse de Doctorat en Médecine ou en Pharmacie doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner ni approbation, ni improbation (Délibération en date du 6 juin 1956) .

A MA FAMILLE

A TOUS MES AMIS

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur DASTUGUE

Professeur de Biochimie Médicale
Docteur en Médecine et en Pharmacie
Docteur ès-Sciences
Biologiste des Hôpitaux
Lauréat de l'Académie de Médecine
et de l'Académie des Sciences
Chevalier de la Légion d'Honneur
Commandeur de la Santé Publique
Officier des Palmes Académiques
Officier de l'Ordre National du Mérite

Il nous a fait l'honneur de nous accueillir dans son laboratoire. Il nous a confié le sujet de cette thèse et en a sans cesse guidé l'exécution de ses conseils éclairés.

Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre respectueuse gratitude et de notre profonde admiration.

A NOTRE JURY DE THESE

Monsieur le Professeur TURCHINI
Professeur d'Histologie et d'Embryologie
Docteur ès-Sciences
Chevalier des Palmes Académiques

Il nous a fait l'honneur de juger cette thèse.
Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de
notre respectueuse gratitude et de notre
profonde reconnaissance.

Monsieur le Professeur Bastide
Professeur de Chimie Biologique et de Pharmacodynamie
Pharmacien-Chef des Hôpitaux
Chevalier des Palmes Académiques

Nous n'avons pas oublié l'intérêt qu'il sut
nous témoigner durant nos études.
Nous tenons à l'assurer de notre gratitude
ainsi que de notre profond attachement.

A TOUS NOS MAITRES ,

Hommage de profonde reconnaissance.

I N T R O D U C T I O N

Notre travail se situe au lieu de rencontre de trois ensembles de facteurs. Le premier concernant l'ovaire avec sa complexité biologique, le deuxième relatif à l'équipement enzymatique de cet organe, substratum biochimique de la plupart de ses activités, enfin le troisième se rapportant aux substances antiovulatoires devenues depuis quelques années un sujet de grande actualité.

De façon plus précise, nous nous sommes posé la question de savoir dans quelle mesure le mécanisme de ces substances antiovulatoires peut être expliqué par une modification d'activité des enzymes de l'ovaire.

Notre travail se divisera en deux parties:

Une première partie bibliographique, dans laquelle nous exposerons après un bref historique sur les contraceptifs (chapitre I), une classification des enzymes décelées jusqu'à présent dans l'ovaire, quelle que soit l'espèce animale envisagée (chapitre II) ; dans le chapitre suivant, nous nous sommes efforcée de réunir le plus grand nombre possible d'anticonceptionnels connus et utilisés à l'heure actuelle et nous en présentons un essai de classification (chapitre III) . Le quatrième chapitre traite des modes d'action de la "pilule" , modes d'action pour lesquels plusieurs mécanismes sont à envisager, puisque certains contraceptifs présentent en plus de leur effet antiovulatoire, un effet anti-fécondation et un effet anti-implantation. Dans le cinquième chapitre, nous abordons le problème de l'origine des effets secondaires entraînés par le traitement, ce qui se confond, dans une certaine mesure, avec les résultats du traitement à long terme (chapitre VI) .

Dans la deuxième partie , consacrée à nos recherches expérimentales, nous réservons le premier chapitre à l'exposé détaillé de notre méthodologie, c'est-à-dire : aux différentes méthodes d'administration

des contraceptifs, aux substances pharmacologiques expérimentées, au traitement des animaux, à l'obtention des préparations enzymatiques, au mode d'expression des résultats et aux effets secondaires consécutifs au traitement.

Dans le deuxième chapitre, nous rapportons nos résultats relatifs au dosage de la leucine aminopeptidase.

Notre expérimentation se trouve donc limitée à une seule enzyme et cela pour les deux raisons suivantes:

-tout d'abord, parce que dans le même laboratoire une thèse de Doctorat en pharmacie (PLAZONNET 1968)(252) a déjà été consacrée à des travaux que nous n'avions pas à répéter, mais à prendre comme point de départ.

-la deuxième raison, peut-être encore plus valable, est relative au fait que nos animaux devaient être traités pendant des périodes de 7, 14 et 21 jours, avec comparaison avec les témoins, vérification de la période de l'oestrus, nécessité d'avoir en temps voulu un élevage convenable, chaque phase de notre expérimentation s'est révélée exiger un intervalle de temps considérable et il nous a paru préférable en définitive, quant à la rigueur des résultats, de nous contenter de l'étude des modifications d'activité d'une seule enzyme au cours de traitements à l'éthinyl-oestradiol, à la norgestriénone et à l'association de ces deux composés, comme nous le reprendrons plus en détail ultérieurement.

Enfin, nous proposons une esquisse d'interprétation de nos résultats et un résumé des conclusions générales auxquelles nous avons abouti.

Nous tenons à exprimer nos remerciements aux Laboratoires ROUSSEL et en particulier à Messieurs CHAPIREAU et JEQUIER qui ont eu l'obligeance de nous confier l'oestrogène et le progestatif expérimentés et grâce auxquels nous avons pu bénéficier de quelques uns des documents scientifiques indispensables à l'élaboration de notre travail.

Nous ne saurions terminer cette introduction sans exprimer notre vive gratitude à notre Maître, Monsieur le Professeur DASTUGUE pour l'enseignement qu'il a bien voulu nous prodiguer pendant plusieurs années dans son Laboratoire de Biochimie Médicale. Il a inspiré le sujet de cette thèse et en a guidé la réalisation de ses conseils éclairés.

Nous remercions également Monsieur le Professeur BASTIDE pour les précieux conseils qu'il nous a fournis tout au début de ce travail qui a coïncidé encore avec sa présence au Laboratoire et dont la compétence biochimique, notamment dans le domaine enzymatique est des plus connues.

Nous assurons Monsieur le Professeur TURCHINI , dont les recherches ont toujours été axées dans un sens des plus biologiques , de notre respectueuse gratitude pour avoir bien voulu faire partie de notre jury de thèse.

Nous tenons également à remercier Monsieur ARCHIMBAUD, Conservateur à la Bibliothèque de la Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie, qui a facilité nos recherches bibliographiques , ainsi que tous nos Maîtres de Faculté pour la qualité de l'enseignement qu'ils nous ont prodigué.

Nous voudrions enfin adresser notre amical souvenir à l'égard de nos camarades d'études, de nos camarades assistants , ainsi que de tout le personnel du Laboratoire de Biochimie Médicale.

- - -

RECHERCHES BIBLIOGRAPHIQUES

CHAPITRE I

HISTORIQUE -----

L'idée que la fertilité, dans l'espèce humaine, peut être contrôlée, augmentée aussi bien que diminuée, par l'ingestion de drogues appropriées, est très ancienne. C'est ainsi que plusieurs herbes, racines, minéraux, ont été utilisés oralement, aussi bien que localement pendant des centaines d'années et nous comprenons aujourd'hui que quelques uns d'entre eux étaient susceptibles de renfermer des oestrogènes pouvant avoir un effet contraceptif (MEARS 1965)(197).

Cependant, parmi les suggestions offertes, peu d'entre elles ont été soumises à un contrôle scientifique avant les toutes dernières années.

C'est ainsi que les feuilles de *Lithospermum Ruderale*, qui étaient consommées par les Indiens Navajos de l'Amérique du Nord en vue de prévenir la conception semblent contenir, d'après GRAHAM et coll. 1955 (115) des principes anti-gonadotropes.

C'est ainsi qu'actuellement, (MAZZEI PLANAS et coll. 1968)(194), on a pratiqué des essais sur des animaux à l'aide d'une "pilule" anticonceptionnelle à base d'extraits de plantes, de *Stevia* en particulier, connue depuis des centaines d'années par les femmes Indiennes d'Amérique Centrale qui l'absorbaient quotidiennement.

Aux Indes, NAG et coll. 1935 (215) et 1936 (216) observent que des rats nourris exclusivement avec des pois verts, *Pisum Sativum*, ne se reproduisaient pas. Les recherches de SANYAL 1960 (279) conduisirent à la conclusion suivante: le facteur anti-fertilité présent dans l'huile extraite des pois et identifié comme étant la m-xylohydroquinone, agit comme un anti-progestérone et peut-être aussi comme un anti-gonadotrope.

Néanmoins, ces recherches et d'autres analogues, n'aboutirent pas à des bases sérieuses pour une méthode effective et sûre de contraception

orale, et ce n'est qu'avec les recherches de PINCUS et coll. 1961 (247) sur les stéroïdes inhibiteurs de l'ovulation que la possibilité de contrôle effectif de la fertilité par voie orale devint une réalité pratique.

On savait certes depuis de nombreuses années, qu'androgènes, oestrogènes, progestatifs pouvaient inhiber seuls l'ovulation. Et d'après MOREL 1965 (206) toutes les hormones sexuelles, quelle que soit leur polarité, étaient susceptibles, dans certaines conditions, de bloquer la fonction ovarienne; mais pour de nombreuses raisons, ces substances n'avaient jamais été considérées comme utilisables pour la contraception par voie orale.

C'est ainsi qu'avec les androgènes il faudrait utiliser des doses si élevées qu'une virilisation serait certainement produite.

Quant à l'inhibition de la fonction ovarienne par les oestrogènes, elle est connue chez les rongeurs depuis les travaux de PINCUS et coll. 1936 (239), ALLEN et coll. 1939 (5), BALL et coll. 1939 (12) l'observent chez le singe et c'est ZONDEK 1940 (344) qui en fait le premier la mention chez la femme. Un peu plus tard, ses remarques sont confirmées par HAUS et coll. 1947 (130). Puis GOLDZIEHER et coll. en 1963 (III) signalent une inhibition de l'ovulation pendant au moins douze cycles consécutifs avec le mestranol, mais, GOLDZIEHER et coll., cités par NETTER et coll. 1966 (221) remarquent qu'après plusieurs cycles artificiels, le pouvoir inhibiteur des oestrogènes s'épuisent parfois, et une ovulation inattendue peut survenir. Ce phénomène d'échappement ou "escape phenomenon" ne se produit qu'à certaines doses qui, supraliminales à certains cycles deviennent subliminales à d'autres. C'est aussi ce que constate SWYER 1964 (31) qui, augmentant alors les doses d'oestrogènes, signale que des troubles gastro-intestinaux ou autres deviennent inévitables. Enfin, NETTER et coll. 1966 (221) et CHEVALLIER 1967 (45) notent que les règles purement oestroprives sont difficiles à maîtriser parfaitement, et que l'adjonction d'un progestatif a l'avantage d'éviter une surcharge oestrogénique tout en donnant un meilleur contrôle de l'hémorragie de privation.

En ce qui concerne la progestérone, inhibiteur naturel de l'ovulation, notamment pendant la gestation, SWYER 1964 (313) révèle son inactivité par voie orale, et MOREL 1965 (206) estime que la progestérone naturelle injectable semble montrer, au moins dans l'espèce humaine, une activité inhibitrice très réduite.

Enfin, si les progestatifs peuvent à eux seuls inhiber l'ovulation l'adjonction d'un oestrogène, d'après CHEVALLIER 1967 (45) permet d'éviter l'atrophie de l'endomètre quasi constante après l'action d'un progestatif isolé, et de diminuer la dose quotidienne utile du progestatif.

Cependant, dès 1954, l'avènement des dérivés progestatifs de synthèse efficaces par voie orale, surtout avec la découverte de la noréthindrone (17 α éthiny1-nortestostérone) par HERTZ et coll. (133) allait inaugurer une ère nouvelle de la contraception.

- - -

CHAPITRE II

EQUIPEMENT ENZYMATIQUE DE L'OVAIRE : EXPOSE ANALYTIQUE

Nous avons adopté pour cet exposé le schéma général de classification établi selon "Recommendations of the International Union of Biochemistry on the Nomenclature and Classification of Enzymes" 1964 (80).

Nous nous contenterons de donner ici un strict aperçu sur l'équipement enzymatique des ovaires, tous les détails se rapportant à la localisation ayant été développés dans la thèse de PLAZONNET 1968 (252).

OXYDOREDUCTASES

Agissant sur les groupements CH-OH des donneurs (I.I) :

- Avec NAD ou NADP comme accepteur (I.I.I.) :
 - . Alcool déhydrogénase (I.I.I.I.)
 - . Glycérol-3-phosphate déhydrogénase (I.I.I.8.)
 - . Lactate déhydrogénase (I.I.I.27)
 - . 3-Hydroxybutyrate déhydrogénase (I.I.I.30)
 - . Malate déhydrogénase (I.I.I.40)
 - . Isocitrate déhydrogénase (I.I.I.42)
 - . Phosphogluconate déhydrogénase (I.I.I.44)
 - . Glucose-6-phosphate déhydrogénase (I.I.I.49)
 - . 3- α -hydroxystéroïde déhydrogénase (I.I.I.50)
 - . 3- β -hydroxystéroïde déhydrogénase (I.I.I.51)
 - . 17- β -hydroxystéroïde déhydrogénase (I.I.I.51)
 - . 20- α -hydroxystéroïde déhydrogénase
 - . 20- β -hydroxystéroïde déhydrogénase
 - . 16- α -hydroxystéroïde déhydrogénase

- . 6- β -hydroxystéroïde déhydrogénase
- . 16- β -hydroxystéroïde déhydrogénase
- Avec d'autres accepteurs (I.I.99)
 - . Choline déhydrogénase (I.I.99.I)

Agissant sur les groupements aldéhydique ou cétonique des donneurs (I.2) :

- Avec NAD ou NADP comme accepteur (I.2.I) :
 - . Glycéraldéhydephosphate déhydrogénase ou Triose phosphate déhydrogénase (I.2.1.9)
- Avec le lipoate comme accepteur (I.2.4.) :
 - . Pyruvate déhydrogénase (I.2.4.1)
 - . Oxoglutarate déhydrogénase (I.2.4.2)

Agissant sur le groupement CH-CH des donneurs (I.3) :

- Avec d'autres accepteurs (I.3.99) :
 - . Succinate déhydrogénase (I.3.99.I)

Agissant sur le groupement CH-NH₂ des donneurs (I.4) :

- Avec NAD ou NADP comme accepteur (I.4.I) :
 - . Glutamate déhydrogénase (I.4.I.2)
- Avec un oxygène comme accepteur (I.4.3) :
 - . Monoamine oxydase (I.4.3.4)
 - . Diamine oxydase ou histaminase (I.4.3.6)

Agissant sur le NAD ou NADP réduits (I.6) :

- Avec un disulfide comme accepteur (I.6.4.)
 - . Lipoamide déhydrogénase ou Diaphorase (I.6.4.3)

Agissant sur le groupement "hème" des donneurs (I.9) :

- Avec oxygène comme accepteur (I.9.3.)
 - . Cytochrome oxydase ou Cytochrome a₃ (I.9.3.I)

Agissant sur les peroxydes d'hydrogène comme accepteurs (I.II) :

- . Catalase (I.II.I.6)
- . Peroxydase (I.II.I.7)

Oxygénases (I.13) :

- . Tryptophane oxygénase (I.I3.I.I2)

Hydroxylases (I.I4) :

- . Stéroïdes I6- α -hydroxylase
- . Stéroïdes I7- α -hydroxymase (I.I4.I.7)

TRANSFERASES

Glycosyltransférases ou Transglycosylases (2.4.) :

- Hexosyltransférases (2.4.I.)
 - . Glycogène phosphorylase ou α glucan phosphorylase (2.4.I.I.)
 - . Amylophosphorylase

Transférant les groupements contenant N (2.6.) :

- Aminotransférases ou Transaminases (2.6.I)
 - . Aspartate aminotransférase ou glutamique-oxaloacétique transaminase (2.6.I.I)
 - . Alanine aminotransférase ou glutamique-pyruvique transaminase (2.6.I.2)

Transférant les groupements contenant P (2.7) :

- Phosphotransférases avec groupement alcool comme accepteur (2.7.I)
 - . Protéine kinase (2.7.I.37)

Transférant les groupements contenant S (2.8) :

- Sulfurtransférases (2.8.I)
 - . Thiosulfate sulfurtransférase ou rhodanèse (2.8.I.I)

HYDROLASES

Agissant sur les liaisons esters (3.I) :

- Hydrolases d'esters carboxyliques (3.I.I)
 - . Carboxylestérases ou aliestérases (3.I.I.I)
 - . Arylestérases (3.I.I.2)
 - . Lipase (3.I.I.3)
 - . Acétylcholinestérase (3.I.I.7)
 - . Pseudo-cholinestérase (3.I.I.8)
 - . Cholestérol estérase (3.I.I.I3)

- Hydrolases de monoesters phosphoriques (3.I.3)
 - . Phosphotase alcaline (3.I.3.I)
 - . Phosphotase acide (3.I.3.2)
 - . 5'-nucléotidase (3.I.3.5)
 - . Glucose-6-phosphatase (3.I.3.9)
 - . Phosphoprotéine phosphatase (3.I.3.I6)
- Hydrolases des esters sulfuriques (3.I.6)
 - . Arylsulfatases (3.I.6.I)
 - . Stérol sulfatase (3.I.6.2)

Agissant sur les composés glycosyl (3.2) :

- Hydrolases de glycosides (3.2.I)
 - . Lysozyme ou Muraminidase (3.2.I.I7)
 - . α -glucosidase ou Maltase (3.2.I.20)
 - . β -galactosidase ou lactase (3.2.I.23)
 - . α -Mannosidase (3.2.I.24)
 - . Chitobiase ou N-acétyl- β -glucosaminidase (3.2.I.29)
 - . β -glucuronidase (3.2.I.3I)
 - . Amylo-I-6 glucosidase (3.2.I.33)
 - . β -D-fucosidase (3.2.I.38)

Agissant sur les liaisons peptidiques (3.4.) :

- Hydrolases des α -amino-acyl-peptides (3.4.I)
 - . Leucine aminopeptidase (3.4.I.I)

Cette enzyme retiendra tout particulièrement notre attention, puisque c'est celle que nous avons choisie pour notre expérimentation, cherchant à déterminer ses variations au cours de traitements réalisés avec un oestrogène, avec un progestatif et avec l'association de ces deux composés, ceci pendant des périodes de temps d'une, deux et trois semaines. Présente en quantité importante chez le cobaye, dans l'albuminée, l'épithélium germinatif, les vaisseaux sanguins et les follicules (NACHLAS et coll. 1957) (2I3), cette enzyme fut aussi localisée dans les ovaires de Femme, principalement dans les thèques et le corps jaune de gestation (KONIG 1965) (I57).
- Hydrolases de dipéptides (3.4.3)
 - . Protéinases
 - . Ocytocinase

- Hydrolases de peptidyl peptides (3.4.4)
 - . Pepsine (3.4.4.1)
 - . Trypsine (3.4.4.4)
 - . Cathepsine (3.4.4.9)

Agissant sur les liaisons C-N. autres que les liaisons peptidiques (3.5) :

- . Désoxycytidilate déaminase (3.5.4.12)

Agissant sur les liaisons anhydrides d'acides (3.6) :

- Dans les anhydrides contenant des groupements phosphoryl (3.6.1)
 - . Adénosine triphosphatase (3.6.1.8)

Agissant sur les liaisons P-N (3.9) :

- . Phosphoamidases (3.9.1.1)

LYASES

Lyases Carbone-Carbone (4.1) :

- Aldéhydes-Lyases (4.1.2)
 - . Fructose diphosphate aldolase ou Aldolase (4.1.2.13)

Lyases Carbone-Oxygène (4.2) :

- Hydro-Lyases (4.2.1)
 - . Anhydrase carbonique ou Carbonate déhydratase (4.2.1.1)

ISOMERASES

Oxydoréductases intramoléculaires (5.3) :

- Transposition des C=C (5.3.3)
 - . Stéroïde Δ -isomérase (5.3.3.1)

LIGASES

Formant des liaisons C-N (6.3) :

- Amides synthétases (6.3.1)
 - . Glutamine synthétase (6.3.1.2)

CHAPITRE III

CLASSIFICATION DES ANTICONCEPTIONNELS

Nous présentons dans ce chapitre un essai de classification de toutes les préparations spécialisées que nous avons pu recenser à l'heure actuelle et correspondant peu ou prou à ce qu'il est convenu d'appeler aujourd'hui vulgairement la "pilule" .

La plupart de ces produits sont constitués par une substance progestative, additionnée d'une certaine quantité d'oestrogène, dans une proportion variant de 1/1666 à 1/5, à l'exception de: LUTOCYCLINE, SECROSTERON, ORGASTERON, NORLUTIN, NORLUTEN, NORLUTEN A, PRIMOLUT-NOR, NORLUTATE, METRODIOL, DEPO-PROVERA, PROVERA, NIAGESTINE, LUTERAN, LUTORAL, NACENYL, qui se ramènent uniquement à la substance progestative.

Nous attirons également l'attention sur le fait que les produits signalés par une astérisque, bien que comportant un mélange oestrogène plus progestatif, ne semblent pas être préconisés dans un but contraceptif.

Nous avons adopté comme base de notre classification (Tableau I) la nature chimique du produit progestatif, suivant que celui-ci est un dérivé, soit de la testostérone (I), soit de la 19 Nor-testostérone (II), soit de la 17 hydroxyprogestérone (III) .

Légende du tableau:

- D₁ - Dose du progestatif en mg.
- D₂ - Dose de l'éthinyl-oestradiol en mg.
- D₃ - Dose du mestranol en mg.
- R - Rapport oestrogène/progestatif.
- S - Spécialités.
- L - Laboratoires.

CLASSIFICATION DES PROGESTATIFS						
I - DERIVES DE LA TESTOSTERONE						
<u>Ethistérone</u> : 17α-éthiny1-17β-hydroxy-4 androsten-3-one						
D1	D2	D3	R	S	L	
50	0,03		1/1666	Produostérone	Roussal	
50	0,050		1/1000	Aménorone*	Roussal	
10	0,010		1/1000	Menstrogen Di-Pro	Organon	
40	0,040		1/1000	Lutogynoestryl Fort*	Roussel	
10	0,010		1/1000	Lutogynoestryl*	Roussel	
10	0,010		1/1000	Diménoral*	Endopancrine	
25				Lutocycline*	Ciba	
5				Lutocycline*	Ciba	
25	0,1		1/250	Ovin Oracon	Bristol-Myers	
10	0,05		1/200	Sécrody1	Glaxo	
5				Sécrostéron*	Glaxo	
5				Orgastéron*	Endopancrine	
1				Orgastéron*	Endopancrine	
5	0,1		1/50	Norquentiel A et B	Grémy-Longuet	
2		0,1	1/20	Ortho-Novin SQ Ortho-Novin 2	Ortho	
2		0,1	1/20	Ortho-Novum 2mg	Cilag-Chemie	
II - DERIVES DE LA 19 NOR-TESTOSTERONE						
1 - 3-oxy 19 Nor-testostérone : comportant en 17 α : un radical méthyl : <u>Norméthandrolone</u> : 17α-méthyl-4-estren-17-ol-3-one - un radical éthyl : <u>Noréthindrone ou Noréthistérone</u> : 17αéthiny1-3-oxo-19 nor-4 androsten-17β-yl						

CLASSIFICATIONS DES PROGESTATIFS

• Acétate de Noréthindrone :

D1	D2	D3	R	S	L
2		0,1	1/20	Conluten	Astra
1		0,08	1/12	Ortho-Novin 1/80	Ortho-Pharmaceutical
1		0,05	1/20	Norinyl	Syntex
5				Norlutin *	Parke Davis
5				Norluten *	Gremy-Longuet
5	0,10		1/50	Gestop	Squibb
4	0,05		1/80	Anovlar 21	Schering Pharmaceuticals
3	0,05		1/60	Gynovlar 21	Schering Pharmaceuticals
2,5	0,05		1/50	Etalontin Porlestrin 2,5	Parke Davis
2	0,01		1/200	Primoston	Schering SEPPS
1	0,05		1/20	Orlest Norlestrin Fe Norlestrin 1mg	Parke Davis
1	0,05		1/20	Minovlar Minovlar ED Milli-Anovlar	Schering Schering SEPPS
10				Primolut-Nor *	Schering
5	0,01		1/500	Duogynon Oral Gravitest *	Schering
5				Norlutate *	Parke Davis
2,5	0,05		1/50	Gestest *	Squibb
2,5				Norlutin A *	Parke Davis
9,85		0,15	1/65	Enovid 10 Enavid 10 Conovid 10	Searle

• Noréthynodrel :

isomère Δ 5 (10) de noréthindrone
17 α éthinyl 17 β hydroxy-19-nor-5 (10)
androstén-3-one

CLASSIFICATION DES PROGESTATIFS

- Vinyl oestronolone ou norvinodrel :
17 α vinyl-oestr-5(10)-en-17 β -ol-3-one
- Norgestriénone :
3 céto-17 β hydroxy 17 α éthiny1 Δ 4,9,11
oestratriène
- Diacétate d'éthynodiol :
17 α éthiny1-19-nor-androsten-3 β ,17 β diyl
diacétate

D1	D2	D3	R	S	L
5		0,075	1/66	Enovid 5 Enavid 5 Conovid 5	Searle
5		0,075	1/66	Feminor-Sequential	London Rubber
4,925		0,075	1/65	Enovit	Lepetit
4,925		0,075	1/65	Enidrel	Byla
2,5		0,1	1/25	Enovid E Enavid E Conovid E	Searle
2,5		0,1	1/25	Prévision	Roussel
1	0,1		1/10	Vestalin	Ormonotérapie- Richter
2	0,05		1/40	Planor	Roussel
2		0,1	1/20	Ovulen 2 Metrulen 2	Searle
2		0,1	1/20	Métrulène	Byla
2				Métrodiol	Byla
2				Luto-Métrodiol	Byla
1		0,1	1/10	Ovulen Metrulen-M	Searle
1		0,1	1/10	Ovulène 1	Byla
1		0,1	1/10	Ovulen	Boehringer
0,5		0,1	1/5	Ovulen 0,5 Ovulen-Mite Demulen	Searle

CLASSIFICATION DES PROGESTATIFS

- Norgestrel :
d1 éthyl 13 éthynyl 17α hydroxy 17β gonèse 4 one 3
- 2 - 3-désoxy - 19 Nor-testostérone :
- Lynoeestrénol :
17αéthynyl- 19 nor-4 androsten 17β-ol

III - DERIVES DE LA 17 HYDROXY-PROGESTERONE

- 1 - Par Méthylation :
 - Acétate de médroxyprogestérone :
6αméthyl-3,20 dioxo-4-pregnen-17α-yl acétate
 - Acétate de mégestrol :
6 méthyl-3,20 dioxo-4,6 pregnadien-17α-yl acétate

D1	D2	D3	R	S	L
0,5	0,05		1/10	Stédiril. Gentrol. Monovar. Ovral. Fémenal. Eugynon. Duo 10 ton Eugynon	Wyeth-Byla
0,5	0,05		1/10		Schering
5		0,15	1/33	Lyndiol	Endopancrine
5		0,15	1/33	Noracycline Sistométril	Ciba
2,5		0,080	1/31	Ovanon	Organon
2,5		0,075	1/33	Ovariostat	Organon
2,5		0,075	1/33	Noracycline 22	Ciba
2,5		0,075	1/33	Lyndiol 25	Endopancrine
2,5		0,075	1/33	O.V. 28	Biozédra
50				Dépo-Provéra	Upjohn
10				Provéra	Upjohn
10	0,05		1/200	Provest	Upjohn
10	0,05		1/200	Gestovex	Lovens
5	0,075		1/66	Zyklo-Farlutal	Farmitalia
2,5				Provéra	Upjohn
2	0,075		1/26	Estrofarlutal	Farmitalia
5				Niagestine	Novo
4	0,05		1/80	Delprégnine Planovine	Novo

CLASSIFICATION DES PROGESTATIFS						L	
						S	R
D1	D2	D3	R	S	L		
4	0,05		1/80	Volidan	B.D.H.		
1	0,1		1/10	Sérial 28	Glaxo		
5				Lutéran 5*	Cassenne		
5				Lutoral 5	Syntex		
3		0,1	1/30	Aconcept	Clévenot		
3		0,1	1/30	Aconcen	Merck		
2		0,08	1/25	Secuentex	Syntex Lilly		
2		0,08	1/25	Lutoral Con Estrogenos	Syntex		
2	0,05		1/40	Ethy-11 + Lutestral	Cassenne		
2				Lutéran 2*	Cassenne		
2				Lutoral 2	Syntex		
1,5		0,08	1/18	Estirone Estirone C-Quens Sequens	Lilly		
0,5				Nacényl	Cassenne		

* La classification de ces produits peut être discutée.

. Signalons que la diffusion des mini-pilules a été suspendue par les Laboratoires Syntex.

En France, les anticonceptionnels renfermant l'acétate de chlormadinone vont être retirés du marché, ainsi que le

Préventa* qui renferme 0,100 mg de mestranol et

2 mg d'acétate d'anagestone.

CHAPITRE IV

MODES D' ACTION DES STEROIDES ANTICONCEPTIONNELS

En 1950, PINCUS eut l'idée d'utiliser la progestérone ou l'un de ses dérivés de synthèse pour reproduire l'anovulation. Les recherches sur l'animal se développèrent à la Worcester Foundation, puis elles se firent sur la femme grâce à la collaboration du Professeur ROCK de l'Université de Harvard (PINCUS 1955)(240), (PINCUS et coll. 1958)(243), (PINCUS et coll. 1958)(244).

Jusqu'à ces toutes dernières années (BAULIEU 1968)(16), c'est la suspension de l'ovulation que l'on a cherché à provoquer pour empêcher temporairement la reproduction chez la femme.

Les recherches ont essentiellement porté sur la façon de la provoquer et les modalités d'action des composés efficaces. Ces dérivés ont cependant, et en même temps, d'autres effets qui, considérés jusqu'à présent comme accessoires et pratiquement négligeables devant l'anovulation, peuvent éventuellement à eux seuls, constituer la base de méthodes contraceptives.

On peut schématiquement classer en deux catégories les possibilités d'intervention sur les processus présidant à la conception chez la femme.

On cherche, ou bien à supprimer l'ovulation, selon l'idée initiale de PINCUS, ou bien à empêcher les étapes ultérieures, c'est-à-dire la fécondation, le transport, le développement et l'implantation de l'oeuf.

Des dérivés voisins peuvent agir très différemment, et plusieurs mécanismes d'action semblent intervenir simultanément avec un même composé. Il en est ainsi avec les oestrogènes et les progestagènes qui ont essentiellement et respectivement les activités des hormones naturelles, oestradiol et progestérone.

Chimiquement, les composés utilisables en thérapeutique sont des dérivés des hormones naturelles et certains oestrogènes de synthèse, ainsi que des progestagènes de synthèse dérivés de la 19-nortestostérone sont également utilisés.

RAPPEL PHYSIOLOGIQUE

C'est un système fort complexe qui dirige et coordonne tous les processus d'ovulation et de nidation .

Tout d'abord l'hypothalamus, point de jonction du système nerveux et du système endocrinien, peut par ses sécrétions de nature hormonale, stimuler ou inhiber l'hypophyse .

Ces territoires hypothalamiques sont sensibles aux taux sanguins des stéroïdes ovariens et la production des releasing-factors, intervenant dans la sécrétion de FSH et de LH, est réglée par des phénomènes de rétro-action ou régulation en feed-back .

Ensuite, l'hypophyse représente l'organe de commande qui tient sous sa dépendance l'ensemble du fonctionnement ovarien. C'est au niveau de celui-ci que va se dérouler la chaîne des événements allant de la maturation folliculaire à l'ovulation, dont les phases successives ont été rappelées par HOLMES et coll. 1962 (139), THIEBLOT et coll. 1963 (319), MAUVAIS-JARVIS 1967 (191), puis allant de la biosynthèse des hormones ovariennes à leur sécrétion .

L'activité cyclique ovarienne implique l'intervention de trois gonadotrophines, FSH, LH et LT libérées par l'ante-hypophyse dans des proportions définies et suivant une chronologie précise:

- la sécrétion basale de FSH ou "Follicule Stimulating Hormone" et de LH ou ICSH ou "Interstitial Cell Stimulating Hormone" est responsable de la croissance folliculaire et de la stéroïdogénèse .
- la sécrétion cyclique de LH, brève mais importante, est plus spécialement responsable de la rupture folliculaire et de l'ovulation .
- puis après l'ovulation, et sous l'influence de la LT ou lutéotrophine ou prolactine, commence la maturation du corps jaune.

Le transit tubaire constituera l'étape suivante. La durée du transport à travers l'oviducte est un facteur essentiel pour l'avenir de l'ovule fécondé .

Enfin, l'organe terminal sera l'utérus, siège de modifications profondes où l'endomètre développera sa "dentelle" juste à temps pour permettre la nidation de l'oeuf .

SCHEMA DES NIVEAUX D' INTERVENTION

Les hormones sexuelles, par leurs effets de rétrocontrôle sur la sécrétion des hormones gonadotropes et de contrôle sur les cavités génitales, sans compter la possibilité d'intervention dans la maturation du follicule et l'évolution de l'oeuf, interviennent à plusieurs niveaux .

Sur cette base, on conçoit qu'en amplifiant, supprimant, contrecarrant ou modifiant leurs effets, on puisse contrôler efficacement les processus physiologiques .

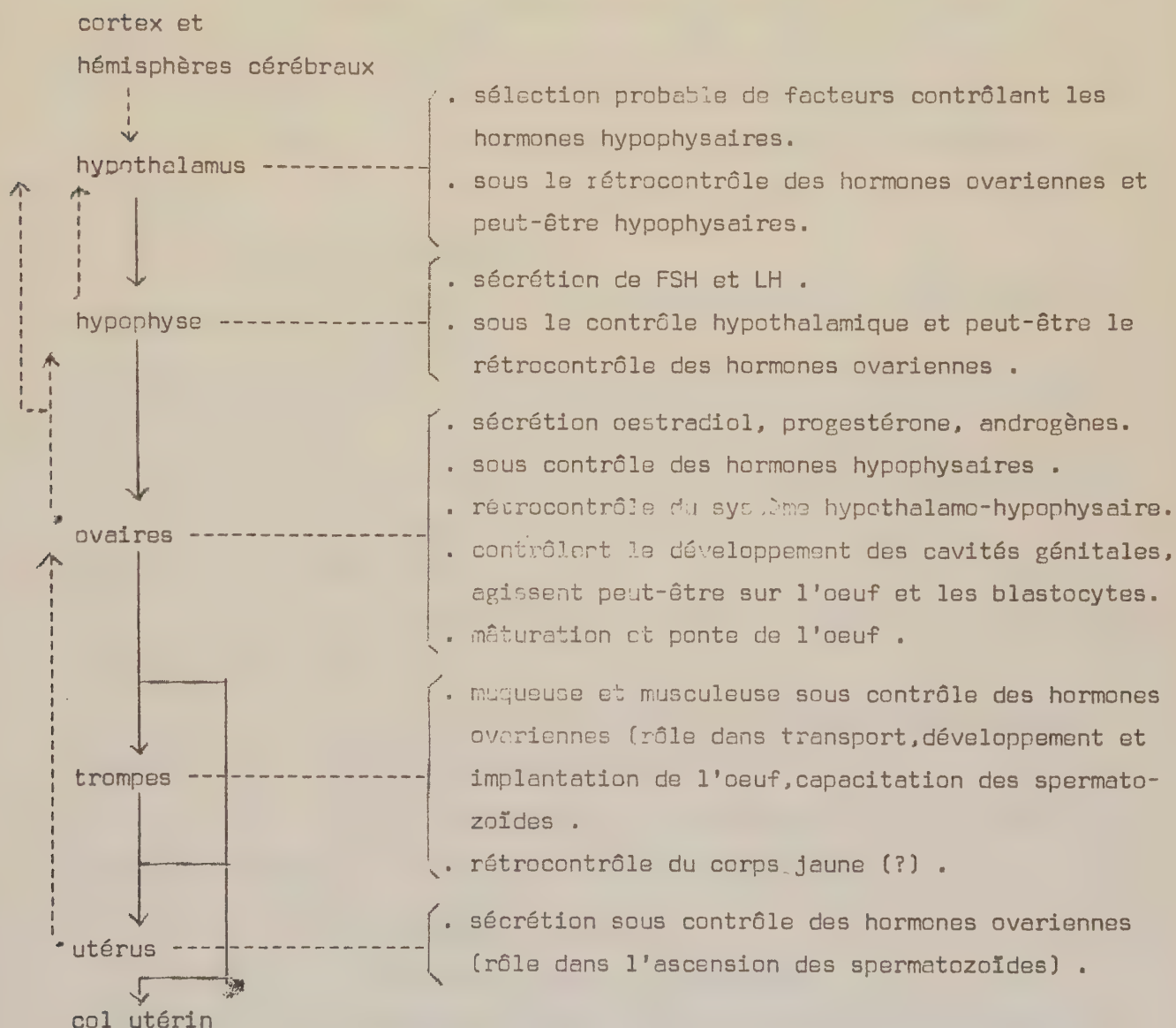


Schéma donné par BAULIEU 1968 (16)

LES MECANISMES D' ACTION

I - SUPPRESSION DE L'OVULATION :

1°) Action centrale :

Alors que RAVINA (259) et OMS 1966 (230) hésitent à se prononcer pour une action directe sur l'hypophyse ou par l'intermédiaire de l'hypothalamus, LUMBROSO et coll. 1965 (176), MARTINI et coll. 1966 (187), CHEVALLIER 1967 (45) déclarent que cette action s'exerce sur les centres hypothalamiques .

L'ensemble des expérimentations réalisées sur l'animal à ovulation cyclique ou spontanée et sur la femme, semblent démontrer que les contraceptifs agissent par inhibition des sécrétions gonadotropes endogènes.

C'est à cette conclusion qu'ont conduit les expériences suivantes :

a) Sur l'animal :

- Traitement au noréthynodrel et à la noréthindrone sur la ratte :

DRILL et coll. 1957 (67), SAUNDERS et coll. 1958 (284), EPSTEIN et coll. 1958 (81) .

- Traitement au noréthynodrel et à la noréthindrone sur la ratte et la lapine :

GRASSET et coll. 1962 (117) .

- Traitement au noréthynodrel et au mestranol sur la ratte:

GARDNER et coll. 1964 (98) .

- Traitement à l'ENOVID* sur la ratte ovariectomisée :

EPSTEIN et coll. 1958 (81), SAUNDERS 1964 (286) .

Ils révèlent que le noréthynodrel est un puissant inhibiteur de l'accumulation de LH au niveau de l'hypophyse .

b) Dans l'espèce humaine :

- Traitement avec les oestrogènes :

BOCKNER 1963 (22), SCHOCKAERT et FERIN cités par NETTER et coll. 1966 (221) .

- Traitement avec les progestatifs :

TAYMOR cité par COHEN 1965 (48), BUCHHOLZ et coll. 1964 (35) dont les recherches sont en tout point similaires à celles de BROWN et coll. 1962 (33) .

- Traitement avec l'association :

PEETERS 1964 (238), MULLER 1965 (209), KLOPPER 1965 (155), AURELL et coll. 1966 (9), RYAN et coll. 1966 (278) .

Les examens histologiques des testicules et ovaires réalisés par MAC GINTY et coll. 1958 (182), NELSON et coll. 1960 (220) et PINCUS et coll. 1961 (247), indiquent que FSH et LH sont impliquées ensemble mais à un degré variable et quantitativement indéterminé et NELSON et coll. suggèrent que la LH peut être inhibée par de plus petites quantités de stéroïdes que celles nécessaires à l'inhibition de la FSH .

HOLMES et coll. 1962 (139) découvrent que chez les femmes, les gestagènes actifs oralement ne bloquent pas spécifiquement la libération de LH et que la suppression de la sécrétion de FSH n'a pas encore été prouvée .De plus, rien ne semble être connu au sujet de l'effet de ces drogues sur la libération de lutéotrophine.

En 1965, LUMBROSO et coll. (176), COHEN (48), MOREL (206), MEARS (197), VORYS et coll. (334) et HALLER en 1966 (127) s'interrogent sur l'action inhibitrice des contraceptifs . S'exerce-t-elle sur la FSH, la LH ou sur l'équilibre hormonal FSH/LH ?

MEARS 1965 (197) et HILLIARD et coll. 1966 (136) constatent que seul, l'éthinyl-oestradiol ou le mestranol , aux doses utilisées, peuvent empêcher l'ovulation par inhibition des gonadotrophines hypophysaires . VORYS et coll. 1965 (334) constatent que les oestrogènes à doses fortes suppriment l'activité FSH, le mestranol étant le plus efficace . A doses faibles par contre, ils stimulent la libération de LH .STARUP 1967 (303), à la suite des expériences de GREENWALD 1964 (119), 1965 (120),(121), conclue que les oestrogènes inhibent la libération de FSH et exercent essentiellement une action feed-back négative sur cette gonadotrophine .

En conclusion, les oestrogènes seraient dotés d'une forte activité antiovulatoire, basée principalement sur la suppression de l'activité FSH , de sorte que la décharge ovulante de LH, qui n'est pas supprimée et est même stimulée (GHNASSIA et coll. 1968)(104), se fait sur un follicule immature et non préparé .

L'inhibition des stimulines hypophysaires se traduit par l'empêchement de l'ovulation, c'est-à-dire la mise au repos de l'ovaire .

L'une des théories les plus vraisemblables sur l'action des contraceptifs oraux est, selon KLOPPER 1965 (156), qu'il y a une synergie entre l'oestrogène et le gestagène, le premier supprimant la folliculostimuline hormone et le dernier la lutéine hormone . MOREL 1965 (206) révèle que le fait est classique pour les oestrogènes vis-à-vis de la

libération de FSH et l'activité oestrogénique antagoniste est d'autant plus manifeste qu'elle peut provenir du progestatif lui-même . En effet, les progestatifs dérivant chimiquement des oestrogènes, il peut se produire, au cours de leur synthèse, une contamination, en particulier par le mestranol (RUDEL et coll. 1966)(274) . Cependant, cette théorie est incompatible avec le fait que les dérivés obtenus actuellement sont chimiquement purs .

Une autre solution avait été envisagée par TAMOTSU MYAKE 1961 (316) : la transformation des progestatifs en éthynyl-oestradiol au cours de leur catabolisme . Cette théorie, soutenue par HILLIARD et coll. 1966 (136) n'a pu être vérifiée cliniquement (RUDEL et coll. 1966)(274) . Cependant, les auteurs précisent que seuls les 19-norstéroïdes, par opposition aux 17-acétoxyprogestérone sont partiellement métabolisés en éthynyl-oestradiol et il a été prouvé que le cycle A du noréthynodrel est susceptible de se transformer en noyau aromatique (TAMOTSU MYAKE 1961)(316) et que la noréthistérone et ses esters subissent une transformation partielle en éthynyl-oestradiol (MOREL 1965)(206) .

Cependant, d'après les expériences de GREENWALD 1964 (119) sur le hamster et de HILLIARD et coll. 1966 (136) sur la lapine, une intervention centrale du noréthynodrel et de la noréthindrone a été reconnue, prévenant la rupture folliculaire en bloquant la sécrétion de LH. KANEMATSU et coll. 1965 (149) ont confirmé cette action centrale : l'implantation hypothalamique de noréthindrone bloque l'ovulation chez la lapine alors que l'ovaire reste normal .

TAYMOR 1964 (317) et RYAN et coll. 1966 (278) observent une chute du taux total des gonadotrophines avec disparition du pic de LH du milieu du cycle .

Une suppression du pic de LH a également été observée chez l'animal par STEVENS et coll. 1965 (304) et VORYS et coll. 1965 (334) avec le diacétate d'éthynodiol, par APOSTOLAKIS et coll. 1966 (7) et SCHMIDT-ELMENDORFF et coll. 1967 (287) avec le lynestrénol, par MISHELL 1967 (201) avec l'acétate de chlormadinone et de médroxyprogestérone, par BELL et coll. 1967 (19) et MAC CORMICK 1968 (181) avec la noréthistérone, mais cet effet dépend des doses administrées. Ainsi, SCHMIDT-ELMENDORFF 1967 (287) révèle que 0,25 ou 0,50 mg de diacétate d'éthynodiol s'avèrent inefficaces , alors que 2 mg suppriment le pic de LH ; de même, 0,50 mg de lynestrénol n'abolissent pas dans tous les cas le pic de LH . En 1968, DICZFALUSY (64) précise que la suppression du pic ovulatoire de LH est inconstamment assurée par les oestrogènes, même à dose suffisante pendant les premiers cycles alors qu'elle l'est constamment par les progestatifs et les associations .

Quant à la sécrétion de FSH, elle est déprimée par des doses d'oestrogènes de l'ordre de 80 à 100 µg d'éthinyl-oestradiol ou de mestranol et par les associations oestro-progestatives . En revanche, les progestatifs seuls ne l'inhibent pas toujours .

Ces résultats semblent confirmer les expériences de RAVINA (259) et OMS (230) qui constataient en 1966 la suppression par certains gestagènes du clocher de l'excrétion de l'hormone lutéinisante et remarquaient que quelques autres progestatifs semblaient avoir surtout une action anti-FSH . De même, HILLIARD et coll. 1966 (136) et EDGREN et coll. 1967 (76) ont révélé les propriétés oestrogéniques du noréthynodrel et du lynestrénol. OVERBEEK et coll. 1964 (235) et SCHMIDT-ELMENDORFF et coll. 1967 (267) ont démontré que le lynestrénol abolit l'excrétion de FSH alors que sa forme méthylée en 6α inhibe le pic de LH, si bien que le lynestrénol peut être utilisé seul pour bloquer l'ovulation .

D'autres progestatifs ont, par contre, une activité antioestrogénique surtout marquée d'après HILLIARD et coll. 1966 (136), RUDEL et coll. 1966 (274), EDGREN et coll. 1967 (76) et RUDEL et coll. 1967 (275) pour la noréthistérone, et d'après RUDEL et coll. 1966 (274) et 1967 (275) pour la chlormadinone. Quant au diacétate d'éthynodiol, VORYS et coll. 1965 (334) ont démontré qu'utilisé seul, il supprimait le pic de LH, alors qu'associé au mestranol, il ne permettait pas l'inhibition de FSH habituellement produit par cet oestrogène . Aussi, d'après GHNASSIA et coll. 1968 (104) cette activité antioestrogénique pourrait intervenir dans le mécanisme d'action de certains oestroprogestatifs, expliquerait selon DICZFALUSY 1968 (64) les modifications de l'activité antigonadotrope selon le rapport oestrogène/progestatif de la combinaison utilisée, et serait donc à l'origine des différences d'action entre produits commercialisés .

Enfin, selon SWERDLOFF et coll. 1969 (312) , les sujets recevant un traitement associé verraient leurs pics de FSH et LH effondrés et les valeurs de ces gonadotrophines plasmatiques seraient constantes tout au long du cycle . Au contraire, avec un traitement séquentiel (on administre chaque jour un oestrogène du 5ème au 25ème jour du cycle et on lui associe un progestatif du 16ème au 25ème jour), on observe plusieurs petits pics de LH au cours de l'administration de l'oestrogène seul et quand le progestatif est ajouté, un pic très net de LH est noté chez 5 sujets sur 8 dans les 24 à 48 heures après l'adjonction du médicament ; ensuite, les taux de LH s'effondrent plus bas que lors du traitement oestrogénique . Quant à la FSH, elle reste constamment effondrée tout au long de l'étude .

Les auteurs se demandent donc si le mode d'action de la thérapeutique séquentielle (cette méthode ayant fait la preuve de son efficacité)

est lié à la survenue, aberrante dans le temps, du pic de LH, à la suppression du pic folliculaire de FSH, à la suppression du pic préovulatoire de FSH ou bien à une cause encore inconnue.

c) Arguments en faveur d'une action centrale :

DRILL et coll. 1957 (67), SAUNDERS et coll. 1958 (284), HOLMES et coll. 1962 (I39), ECKSTEIN et coll. 1962 (73), COHEN 1965 (48) et MEARS 1965 (I97) ont remarqué chez le rat, qu'un traitement préalable au noréthynodrel ne bloque pas l'action des gonadotrophines injectées. Chez la lapine qui ovule 9 à 10 heures après la copulation, EDGREN et coll. 1962 (75), HARPER 1962 (I29) et MEARS 1965 (I97) constatent que les gestagènes actifs oralement n'empêchent pas cette ovulation si des gonadostimulines ont été injectées. Ceci paraît donc bien prouver, avec les expériences de parabiose effectuées sur les ratte et les souris, que le mécanisme d'action des progestatifs se situe au niveau de la sécrétion des gonadostimulines qu'ils inhibent.

D'autre part, COHEN 1965 (48), LUMBROSO et coll. 1965 (I76), CHEVALLIER 1967 (45), ont cité d'autres arguments tels que l'augmentation de la température matinale de quelques dixièmes de degré, interprétée comme un effet sur l'hypothalamus, et tels que les dosages des gonadostimulines urinaires chez des femmes ménopausées ou ovariectomisées, recevant des progestatifs et dont les taux s'abaissent à des valeurs normales ou inférieures à la normale.

Cependant, il est à remarquer qu'il existe des observations contradictoires où les taux de gonadostimulines restent élevés chez des femmes ménopausées et ainsi traitées.

Ces constatations ont fait envisager une action directe, à savoir, une non réceptivité des ovaires à des gonadostimulines normalement sécrétées. Certaines expériences citées par LUNENFELD et coll. 1963 (I79), LUMBROSO et coll. 1965 (I76), COHEN 1965 (48), paraissent confirmer cette action périphérique, en particulier, le fait que l'administration successive d'hormones gonadotropes extraites d'urines de femmes ménopausées (H.M.G.) et d'hormones chorioniques (H.C.G.) permette d'obtenir une ovulation chez des femmes jeunes aménorrhéiques alors que l'association de cette même thérapeutique à un progestatif de synthèse n'est plus capable de provoquer l'ovulation.

LORAIN 1964 (I74), LORAIN et coll. 1965 (I75) et HAMMERSTEIN 1967 (I28) ont postulé cette action inhibitrice directe en se basant sur la persistance d'un taux normal de GUT après traitement.

Beaucoup d'autres chercheurs, dont MEARS 1965 (I97),

CHEVALLIER 1967 (45) suggèrent que, bien que l'action prédominante des stéroïdes semble être sur l'hypophyse, on ne peut éliminer formellement l'hypothèse d'une action directe sur l'ovaire .

2°) Action périphérique :

Les gestagènes actifs oralement peuvent agir sur l'ovaire par deux voies différentes :

a) En endommageant les cellules germinales :

ROCK 1961 (269) examine des biopsies ovariennes de femmes traitées pendant deux à vingt cycles avec du NORLUTIN* et de l' ENOVID* , mais le nombre de follicules primordiaux est presque identique chez les femmes traitées ou non . Ces résultats suggèrent que le traitement n'accélère pas de façon appréciable la disparition des oocytes .

D'autre part, puisqu'aucune distinction n'est faite histologiquement entre les cellules germinales normales et atrésiques, il est impossible de dire si, oui ou non, le traitement accroît l'incidence de l'atrésie . Aussi, HOLMES et coll. 1962 (139) concluent qu'aucune réponse ne peut être apportée concernant l'induction de la stérilité par altération des cellules germinales de l'ovaire .

b) En réduisant la sensibilité du système folliculaire à la stimulation gonadotrophique :

Plusieurs laboratoires ont étudié l'effet des gestagènes actifs oralement sur la sensibilité ovarienne aux gonadotrophines .

MATSUMOTO et coll. 1960 (188) prétendent que des rats hypophysectomisés prétraités avec le 17 α méthyl 17 α éthyl 19 nortestostérone répondent moins vigoureusement à des injections de gonadotrophines que des témoins hypophysectomisés non traités, et ils concluent à un effet direct sur l'ovaire .

PURSHOTTAM et coll. en 1961 (254) notaient chez la souris une réduction du nombre des ovules après administration d'une dose "super-ovulatoire" de gonadotrophines et de stéroïdes . BROWN et coll. 1962 (32), LORAINE et coll. 1963 (173), LUNENFELD et coll. 1962 (178), LUNENFELD 1964 (180), STAEMMLER cité par COHEN 1965 (48), les deux premiers auteurs après évaluation des taux d'hormones endogènes et après étude, par les autres auteurs, de la réponse ovarienne aux gonadotrophines exogènes données seules et associées avec des progestatifs, suggèrent que ces derniers peuvent produire leurs effets par une action directe sur l'ovaire, le rendant non réceptif à la sécrétion gonadotrope . De même, GUEGUEN 1965 (123) démontre que

l'acétate de chlormadinone n'empêche pas la réponse ovarienne aux gonadotrophines chorioniques, ce qui est mis en évidence par la mesure des métabolites de la progestérone et des oestrogènes .

SWYER 1964 (313), MOREL 1965 (206), MEARS 1965 (197), LUMBROSO et coll. 1965 (176), MORICARD cité par NETTER et coll. 1966 (221), VELLUZ 1967 (329), envisagent la possibilité d'une action périphérique directe, les progestatifs s'opposant à la réponse de l'ovaire aux gonadotrophines hypophysaires ou dénaturant la synthèse des stéroïdes; et SWYER précise que les comprimés suppriment la sécrétion des oestrogènes par l'ovaire . L'oestrogène présent dans le comprimé ne fait guère plus que compenser l'apport endogène diminué et par conséquent, on observe une prédominance progestative .

KAR et coll. 1965 (150) affirment que l'administration de certains stéroïdes, au moins chez l'animal, inhibe complètement la réactivité ovarienne .

Le concept d'un effet direct sur les ovaires est également suggéré par RYAN et coll. 1966 (278), CHEVALLIER 1967 (45), les préparations **stéroïdes** pouvant avoir différents sites d'action ou pouvant agir simultanément à la fois sur l'hypophyse et sur l'ovaire qui serait alors incapable de répondre aux incitations des gonadotrophines endogènes .

Mais des arguments contre cette théorie ont été publiés, démontrant en particulier l'induction de l'ovulation par les gonadotrophines exogènes HMG et HCG chez des femmes prenant des stéroïdes contraceptifs . Ce sont les expériences de TAYMOR et coll. 1965 (318) avec l'acétate de noréthindrone, de JOHANNISSON et coll. 1965 (147) avec l'acétate de noréthindrone ou de médroxyprogestérone sur cinq malades aménorrhéiques, de STARUP et coll. 1966 (302) avec l'acétate de mégestrol plus le mestranol, de PUJOL-AMAT et coll. 1967 (258) avec le diacétate d'éthynodiol plus le mestranol .

Il faut noter cependant, comme GHNASSIA et coll. 1968 (104) et BAULIEU 1968 (16), que l'obtention d'une réponse des ovaires implique expérimentalement l'utilisation de doses élevées de gonadotrophines ne permettant pas de déceler les modifications plus subtiles de la sensibilité ovarienne à la stimulation gonadotrophique .

RUDEL et coll. 1966 (274) ont étudié l'action de deux oestrogènes et de cinq progestatifs sur l'ovulation induite chez la ratte hypophysectomisée par l'association PMSG ("gonadotrophin from pregnant mare's serum" ou gonadotrophine de serum de jument gravide) plus HCG et ils n'ont pas observé d'inhibition de l'ovulation . Des résultats analogues ont été obtenus chez la ratte immature par ECKSTEIN et coll. 1962 (73) avec le noréthynodrel, KRAHENBUHL et coll. 1964 (157) et COPPOLA et coll. 1966 (50) .

En résumé, c'est au niveau de l'ovaire qu'il existe le maximum de divergences . En effet, certains travaux montrent que les oestro-progestatifs diminuent la sensibilité ovarienne aux gonadotrophines endogènes; d'autres montrent l'inverse . Ce champ d'investigation est récent et il faudrait savoir pourquoi, au cours de certains traitements, un corps jaune peut se former (OSTERGAARD et coll. 1968)(233) alors que la prégnandiurie reste quasiment nulle (inférieure à 1 mg par 24 heures) . Il est possible, comme le pensent DICZFALUSY 1968 (64) et BAULIEU 1968 (16) que certains stéroïdes interfèrent aussi dans la biosynthèse ou le métabolisme des hormones et l'on doit remarquer à ce sujet, que des composés dérivés de progestatifs modifient *in vitro* la biosynthèse des stéroïdes (BALATTI et coll. 1967)(II) ainsi que les oestrogènes comme l'ont prouvé les expériences *in vitro* et *in vivo* de MAUVAIS-JARVIS 1966 (190) .

3°) Vérification de l'effet antiovulatoire :

Il n'existe aucun critère direct prouvant l'ovulation ou par conséquent, son inhibition, mais grâce à certains arguments et grâce à des contrôles histologiques et des dosages biochimiques, de très nombreux auteurs ont vérifié la réalité du blocage fonctionnel de l'ovaire .

a) Courbe thermique basale :

GRASSET et coll. 1962 (II7) constatent une élévation presque constante à 37°C lors de l'administration de noréthindrone et de noréthynodrel, élévation comparable à celle observée sous l'action d'autres lutéinisants . NETTER et coll. 1966 (22I) admettent des courbes plates, en dessous de 36°8C, jusqu'au 2Ième jour, subissant une élévation sous l'effet de la chlormadinone à partir du 2Ième ou 22ème jour et retombant avant le 28ème jour .

b) Persistance de la glaire cervicale jusqu'au 20ème jour:

Cité par NETTER et coll. 1966 (22I), cet argument serait en faveur d'un effet antiovulatoire .

c) Frottis vaginaux :

Après traitement à la noréthindrone et au noréthynodrel, GRASSET et coll. 1962 (II7) ont observé que :

- les frottis vaginaux cyto-hormonaux montrent un abaissement très net des indices pycnotique et acidophilique qui ne dépassaient pas 39% dans les 3/4 des cas .

- les critères habituels de l'ovulation disparaissent , ainsi que les évolutions cycliques antérieurement constatées .

d) Dosages hormonaux :

Ils font la preuve de l'absence d'ovulation et de transformation lutéale en montrant vers le 20e, 22e jour du cycle une chute, au niveau des taux post-ménopausiques ou des taux observés après ovariectomies, des stéroïdes urinaires d'origine ovarienne : oestrone, oestradiol, oestriol, prégnandiol, prégnantriol. Ces constatations ont été faites par les auteurs suivants : PINCUS et coll. 1962 (248), SHEARMAN 1963 (291), COHEN 1965 (48), MEARS 1965 (197), LUMBROSO et coll. 1965 (176), NETTER et coll. 1966 (221), APOSTOLAKIS et coll. 1966 (7), FLOWERS et coll. 1966 (85), OSTERGAARD et coll. 1966 (232), CHEVALLIER 1967 (45), SCHMIDT-ELMENDORFF et coll. 1967 (287), BELL et coll. 1967 (19), GELLER 1968 (101).

En ce qui concerne les oestrogènes, CHEVALLIER 1967 (45) précise que les deux pics du 14e et 24e jour disparaissent. Quant au prégnandiol, les chiffres trouvés par NETTER et coll. 1966 (221) au cours de la deuxième moitié du cycle, sont toujours inférieurs à 1 mg, atteignant une moyenne de 0,2 mg environ.

Cependant, MATSUMOTO et coll. 1960 (188) et BAULIEU 1968 (16) remettent en question la signification du débit urinaire du prégnandiol, les composés pouvant inhiber la sécrétion de progestérone d'un corps jaune formé malgré le traitement, et les oestrogènes entraînant de profondes modifications du métabolisme des hormones stéroïdes, en particulier par le biais de modification des protéines de transport.

e) Biopsies de l'endomètre :

Réalisées entre le 19e et le 20e jour, ou entre le 21e et le 23e jour par GRASSET et coll. 1962 (117), MOREL 1965 (206) et NETTER et coll. 1966 (221), elles confirment l'absence de toute activité progestative et la présence d'un endomètre purement prolifératif.

f) Examen des ovaires :

La preuve la plus satisfaisante de l'ovulation est, selon HOLMES et coll. 1962 (139), la récupération des ovules dans les trompes de Fallope, ou l'identification des points de rupture, ou des corps jaunes dans les ovaires. Une telle information est difficile à obtenir car, même les observations faites en laparatomies peuvent être mises en doute ; en effet, tandis qu'un corps jaune complètement formé peut être aisément reconnu, il peut ne pas être facile, même pour un chirurgien expérimenté, de distinguer macroscopiquement un corps jaune involué d'un

cycle précédent, d'un autre corps jaune, incomplètement développé.

Heureusement, les études histologiques de VAN GANSEWINCKEL et coll. 1958 (328), LAUWERYNS et coll. 1964 (166), PEETERS 1964 (238), PINCUS 1965 (249), COHEN 1965 (48), KLOPPER 1965 (156), MOREL 1965 (206), LUMBROSO et coll. 1965 (176), FLOWERS et coll. 1966 (85), PLATE 1967 (251), PUJOL-AMAT et coll. 1967 (253), mettent en évidence l'absence de corps jaune récent et l'arrêt précoce du développement folliculaire. Les biopsies ovariennes ne décèlent en effet aucun follicule mûre, mais les follicules primordiaux demeurent inchangés.

Anatomiquement, les coelioscopies et les laparatomies de CHEVALLIER 1967 (45) et GHNASSIA et coll. 1968 (104) nous révèlent des ovaires non fonctionnels, lisses, blancs, de taille réduite et ayant tendance à une fibrose corticale.

g) Absence de grossesse :

Preuve irréfutable que mettent en avant COHEN 1965 (48) et CHEVALLIER 1967 (45).

4°) Survenue d'une ovulation :

A la suite de ses expériences, SAUNDERS 1958 (282) et (283) conclut que le noréthynodrel ne semble pas agir comme inhibiteur de l'ovulation chez le rat. PINCUS et coll. 1961 (247), HOLMES et coll. 1962 (138) et (139), MEARS 1965 (197) ayant observé des corps jaunes chez leurs rattes traitées au noréthynodrel pendant 45 jours, suggèrent que le blocage de l'ovulation ne rend pas compte complètement de l'inhibition de la fertilité. GOLDZIEHER et coll. 1962 (109) et GOLDZIEHER 1964 (113) constatent eux aussi que l'inhibition de l'ovulation chez la femme n'est pas toujours établie, les taux de prégnandiol dans la deuxième moitié du cycle étant élevés chez 6,8 % des femmes traitées, et ERB et coll. 1965 (82) découvrent des corps jaunes au cours de laparatomies après traitement anticonceptionnel. LORAIN et coll. en 1965 (175) notent une ovulation évidente chez une femme traitée avec de l'acétate de noréthistérone. MEARS 1965 (197) remarque des ovulations occasionnelles dans les derniers cycles des traitements séquentiels ou associés, et il semble qu'une ovulation se produit dans environ 8 % des cycles traités, quel que soit le contraceptif oral utilisé. Cette ovulation pourrait être due selon GOLDZIEHER et coll. 1964 (114), N... 1965 (212), LUMBROSO et coll. 1965 (176) et MOREL 1965 (206) au fait que le progestatif serait administré trop tard dans le cycle, vers le 8e

ou 9e jour, mais ces faits ne sont pas absolument constants et, chez certaines femmes, malgré un traitement commencé assez tôt et avec des doses suffisantes, il persiste dans les urines soit des oestrogènes seuls, à des taux normaux ou au-dessus de la normale, soit des oestrogènes et du prégnandiol, ce qui laisse supposer la survenue d'une ovulation. Malgré cela, l'effet contraceptif persiste, et l'on est ainsi conduit à penser que d'autres mécanismes interviennent et que l'inhibition ovarienne n'est ni absolument constante, ni absolument indispensable à la contraception. Plus tard, VELLUZ 1967 (329) confirme cette hypothèse en révélant que les inhibiteurs de l'ovulation semblent exercer, au moins dans quelques cas, un effet anti-implantation.

II - LES AUTRES POINTS D'IMPACT

L'efficacité totale des contraceptifs oraux est due non seulement à l'inhibition de l'ovulation, mais aussi à d'autres facteurs incluant en particulier la motilité tubaire, l'effet sur l'endomètre, l'effet sur le mucus vaginal.

1°) Niveau tubaire :

a) Chez l'animal :

En 1962, HOLMES et coll. (138) suggéraient que le traitement au noréthynodrel chez le rat pouvait interférer avec les processus de fertilisation incluant le transport de l'ovule, et en 1963, THIEBLLOT et coll. (319) signalaient qu'un phénomène d'accélération du passage de l'ovule dans l'oviducte avait été mis en évidence chez la ratte après administration d'oestrogènes, et la traversée alors trop rapide des voies génitales empêche l'implantation de l'ovule. Cependant, cette interprétation diffère selon les doses d'oestrogènes ; en effet, il semble qu'avec de petites doses, l'ovule soit au contraire retenu dans les trompes où s'accomplit sa dégénérescence. Les mêmes observations ont été faites avec des injections de testostérone. Les expériences de CHANG 1966 (44), RUDEL et coll. 1966 (274), BAULIEU 1968 (16) prouvent que des résultats concordants sont obtenus chez la ratte et la lapine avec des ovules fécondés, ces derniers mettant 24 à 48 heures pour franchir les trompes au lieu de 3 à 4 jours : cette arrivée prématurée des oeufs dans l'utérus entraîne l'absence d'implantation et l'expulsion. Au contraire, GHNASSIA et coll. 1968 (104) décèlent, avec la progestérone, un ralentissement du transport tubaire.

D'autre part, SUZUKI et coll. 1965 (307) ont montré, *in vitro*, que la présence de muqueuse tubaire est nécessaire à la fécondation, la seule présence des spermatozoïdes et d'hyaluronidase étant insuffisante. Mais, comme le remarque BAULIEU 1968 (16), on ne connaît ni le facteur en cause, ni les composantes hormonales qui contrôlent la muqueuse tubaire à cet effet.

b) Dans l'espèce humaine :

En 1966, DICZFALUZY (63) et HALLER (127) et VELLUZ en 1967 (329) ont suggéré la possibilité d'une action des contraceptifs sur la mobilité et la sécrétion tubaires mais en 1968, BAULIEU (16) révèle que les effets entraînés *in vivo* ne sont pas connus dans l'espèce humaine. Cependant, VELLUZ explique que la "pilule du lendemain matin" - "the next morning pill" - semble agir sur le transit de l'ovule fécondé dans l'oviducte et aboutir selon sa structure et les modalités d'administration, soit à sa perte par une chute prématurée dans la cavité utérine, soit à sa dégénérescence après blocage dans l'oviducte.

2°) Niveau utérin :

a) Chez l'animal :

Il est bien connu (SMITH 1926) (295), que les oestrogènes administrés chez les rattes après l'ovulation, s'opposent au développement de l'endomètre et empêchent la nidation. SAUNDERS et coll. 1957 (281) et SAUNDERS 1958 (283) en concluent que le noréthynodrel peut prévenir la nidation chez la ratte puisqu'il possède une oestrogénicité inhérente. DRILL et coll. 1958 (68) et EDGREN en 1958 (74) puis EMMENS et coll. (79) en 1960 ont montré que les gestagènes actifs oralement pouvaient antagoniser l'effet stimulant des oestrogènes naturels sur la croissance utérine et sur l'épithélium vaginal. HOLMES et coll. 1962 (139) constatent que le traitement produit un terrain défavorable à la nidation. GRASSET et coll. 1962 (117) signalent que le noréthynodrel empêche l'implantation du blastocyte chez la ratte ; une inhibition ou un retard de l'implantation de l'oeuf a également été observé chez la ratte par RUDEL et coll. 1966 (274) après administration d'oestrogènes, et par NUTTING et coll. 1967 (226) après administration de progestatifs.

b) Dans l'espèce humaine :

DODDS 1962 (65) et HOLMES et coll. 1962 (138) et (139)

constatent que les progestogènes oraux peuvent contrarier le milieu endocrinien nécessaire à la nidation. En 1965, LUMBROSO et coll. (176), COHEN (48), LORAINE et coll. (175), MULLER (209) observent que sous l'effet de progestatifs seuls ou associés à des oestrogènes, l'endomètre subit des modifications qui le rendent peu apte à la nidation d'un œuf éventuellement fécondé. MEARS 1965 (197) et N... 1965 (212) précisent même que, en donnant le progestagène à partir du 5^e jour du cycle, on prévient l'effet de prolifération normal de l'oestrogène sur l'endomètre, empêchant par conséquent ce dernier de répondre à la progestérone quand l'ovulation apparaît, de telle sorte que l'implantation est empêchée. Ce facteur semble important dans la prévention de la grossesse et il a encore été signalé par CHEVALLIER 1967 (45), VELLUZ 1967 (329), GUEGUEN 1968 (125), KIRCHHOFF 1968 (152). Cependant, selon BAULIEU 1968 (16), il est extrêmement difficile à l'heure actuelle, de savoir dans quelle mesure les modifications endométriales ont, compte tenu de l'évolution normale de l'endomètre, quelque importance pour expliquer l'effet des stéroïdes contraceptifs.

D'autres procédés semblent capables d'empêcher le développement normal de l'œuf fécondé :

C'est ainsi que MORRIS et coll. 1967 (208) remarquent qu'un important apport d'oestrogène dans les jours qui suivent le coït fécondant empêche le développement de la grossesse, probablement par déséquilibre hormonal.

BAULIEU 1968 (16) constate que la suppression pharmacologique de la biosynthèse de l'oestradiol et (ou) de la progestérone entraînerait, même si l'œuf mûrissait normalement, l'impossibilité d'une grossesse ; et enfin, il révèle, qu'au niveau de l'utérus et des trompes il se produit un phénomène important, pouvant être testé expérimentalement, la "capacitation" des spermatozoïdes. Comme nous l'explique CHANG 1958 (43), les spermatozoïdes, chez la plupart des mammifères, ne peuvent pas pénétrer dans l'œuf s'ils n'ont pas été "capacités". Il existe un ou plusieurs facteurs, formés par la muqueuse utérine et tubaire qui annuleraient un facteur "décapacitant" présent dans le liquide séminal. Il pourrait s'agir d'enzymes, la β amylase capacitant les spermatozoïdes *in vitro*. Le phénomène existe dans l'espèce humaine et serait sous la dépendance des hormones. Chez le lapin, par exemple, la capacitation des spermatozoïdes peut être inhibée par l'administration de progestérone. Là encore, on peut envisager le contrôle de la conception.

3°) Niveau cervical :

Les modifications du mucus cervical survenant pendant le cycle menstruel sont sous la dépendance des oestrogènes et de la progestérone. Les changements enregistrés avant et au moment de l'ovulation pendant la phase folliculaire (diminution de la viscosité, de l'albumine, augmentation d'un mucoïde particulier remarquées par MOGHISSI 1966 (202) et MOGHISSI et coll. 1966 (203) et modification du spectre de résonnance magnétique nucléaire observée par ODEBLAD 1966 (227)) correspondraient à une meilleure pénétration des spermatozoïdes, ce que l'on peut mettre en évidence par un test post-coïtal.

Les caractéristiques du mucus sont inversées pendant la phase lutéale qui conditionne une véritable hostilité à l'ascension des spermatozoïdes, à leur pénétration et à leur survie. Au cours de cette phase, le mucus cervical devient épais, visqueux, cellulaire et la cristallisation en feuille de fougère est inhibée.

Or, l'administration de gestagènes actifs oralement produit l'aspect typique de la phase lutéale, comme ont pu le constater HOLMES et coll. 1962 (139). Il faudrait donc retenir les modifications de la glaire cervicale parmi les autres mécanismes expliquant l'action contraceptive. C'est ce qu'ont exprimé, après expérimentation avec des progestatifs, GOLDZIEHER et coll. 1962 (109), MULLER 1965 (209), LUMBROSO et coll. 1965 (176), KLOPPER 1965 (156), MEARS 1965 (197), LORAINÉ et coll. 1965 (175), RUDEL et coll. 1966 (274), LUMBROSO 1966 (177), CHEVALLIER 1967 (45), MARTINEZ-MANAU TOU et coll. 1967 (186), KIRCHHOFF 1968 (152), puis après expérimentation avec les associations anticonceptionnelles, MEARS et coll. 1962 (195) travaillant sur l'ANOVLAR* et ZANARTU 1964 (343) qui, après utilisation d'ANOVLAR*, de LUTORAL*, de LYNDIOL* et d'ENOVID*, ne retrouve que quelques spermatozoïdes mobiles parmi les nombreuses formes immobiles dans la glaire du 10^e au 12^e jour de traitement et constate leur absence totale plus avant dans le cycle. A l'opposé, JACKSON 1961 (145) a observé des spermatozoïdes mobiles au cours d'un traitement à l'ENOVID* et immobiles au cours d'un traitement à l'ORTHO-NOVUM*. Pour MOREL 1965 (206), il semble que ce soit le progestatif qui entraîne le plus nettement le caractère "hostile" du mucus cervical vis-à-vis des spermatozoïdes, bien que le déterminisme (hormonal ou autre) qui confère aux sécrétions génitales, à un moment donné, un pouvoir antagoniste à l'égard de la fécondation ou de la nidation, soit mal connu. Quant à GHNASSIA et coll. 1968 (104), ils constatent qu'il existe une interrelation entre l'oestrogène et le progestatif :

si la dose d'oestrogène diminue, l'effet progestéronique prédomine et inversement. Toutefois, ils n'attribuent aux modifications cervicales qu'un rôle mineur dans l'action contraceptive. En effet, lors du traitement séquentiel, le mucus n'est soumis aux effets du progestatif que très tardivement : l'efficacité de cette méthode n'est donc pas due aux modifications du mucus cervical. D'autre part, en utilisant un dérivé "rétro", dydrogoestrone ou rétroprogestérone, BALATTI et coll. 1967 (II) enregistrent des modifications physiques et fonctionnelles du mucus sans que ce composé ait un effet antifertilité reconnu.

En conclusion et selon BAULIEU 1968 (I6), il semble que les modifications du mucus cervical puissent avoir quelque relation avec l'effet contraceptif des progestatifs, mais on ne peut pas affirmer à l'heure actuelle qu'il s'agisse du point d'impact le plus important de ces dérivés.

- - -

CHAPITRE V

LES EFFETS SECONDAIRES

Comme le remarque MEARS 1968 (I99), l'effet de l'administration continue des anticonceptionnels sur la fonction endocrine et sur la biochimie du corps humain est extrêmement important. Dans cet esprit, il faut non seulement considérer les modifications entraînées par la médication, mais aussi la signification clinique de tels changements, car beaucoup d'entre eux semblent être des adaptations physiologiques similaires à celles qui surviennent au cours de la grossesse, quoique habituellement beaucoup moins marquées.

Jusqu'à présent, nous n'avons pu recueillir toutes les explications nécessaires à la compréhension des multiples effets secondaires qu'engendre la prise des oestro-progestatifs. Aussi, nous nous contenterons dans ce chapitre d'énumérer ces différents inconvénients en essayant cependant de préciser leur origine chaque fois que cela nous sera possible. Dans le chapitre suivant, relatif au traitement à long terme, nous envisagerons de façon plus particulière le problème posé par la fréquence, l'intensité et la durée des effets secondaires suivant la longueur du traitement et le contraceptif employé, sans qu'il nous ait paru possible d'éviter un certain nombre de répétitions.

Enfin, nous pouvons d'ores et déjà indiquer que ces effets secondaires sont peu prévisibles et qu'ils dépendent plus de réactions individuelles que du produit lui-même (NATHAN 1968)(2I8) .

I- EFFETS SECONDAIRES BENINS:

1°) Céphalées:

Souvent de type migraineux, la céphalée se développe tardivement et survient plutôt dans les interruptions de prise de "pilules". Elle représente l'un des effets secondaires les plus durables, observé chez 5 à

10% des patientes, bien que certaines migraines préexistant à la prise de la "pilule" aient pu être améliorées par l'administration de celle-ci (MEARS 1968)(199) .

En 1969, DICKEY et coll. (61) notent l'apparition de maux de tête pendant et en dehors de tout traitement et essayent de déterminer leurs étiologies. Ils arrivent ainsi aux conclusions suivantes:

- les maux de tête survenant au cours du cycle de traitement seraient dûs à l'excès d'oestrogène.
- les maux de tête survenant au cours de l'intervalle sans "pilule" seraient dûs à l'excès de progestérone.
- quant à l'étiologie de la migraine typique, elle serait encore inconnue.

En 1965, GRANT (116) identifie un groupe sujet aux céphalées ayant une structure vasculaire de l'endometrium particulière (groupe d'artérioles important) . Cependant, bien que cette disposition puisse être identifiée par la biopsie de l'endomètre avant le traitement, il n'est pas possible, à l'heure actuelle, de prédire la réponse entraînée par la prise des anticonceptionnels.

De plus, de telles modifications de l'endomètre reflètent des modifications vasculaires dans tout le corps, ce qui est une raison de sensibilisation chez un groupe de femmes prédisposées à un oestrogène progestatif particulier .

2°) Leucorrhée:

GUEGUEN 1968 (125) attire l'attention sur le fait que cette leucorrhée est signalée uniquement lors de l'application de la méthode séquentielle et serait due, par conséquent, à l'augmentation de la sécrétion de la glaire cervicale sous l'influence des oestrogènes donnés seuls du 5ème au 14ème jour du cycle.

De même, DICKEY et coll. 1969 (61) pensent que cette décharge de la glaire cervicale est due à une stimulation des tissus sensibles aux oestrogènes, entraînée par un excès de ces derniers .

3°) Oedèmes:

Ces oedèmes, observés surtout chez les femmes utilisant des contraceptifs oraux riches en oestrogènes, semblent être secondaires à une balance positive en faveur de ces derniers (DICKEY et coll. 1969)(61), et selon MEARS 1968 (199) , ils dépendraient probablement de la quantité totale d'ingestat en électrolytes aussi bien que du degré de modification du métabolisme de l'aldostérone.

II - VARIATIONS DE POIDS:

Bien qu'une élévation de poids modérée (2Kg par exemple) puisse être considérée comme normale pendant le traitement, le problème de l'origine de cette augmentation a été abordé par divers auteurs dont DICKEY et coll. 1969 (61) pour lesquels cette prise de poids progressive serait due à un excès de progestogène, ROZENBAUM et coll. 1969 (272) et MAUVAIS-JARVIS et coll. 1969 (193) . Les études entreprises par ces derniers nous permettent de penser que l'induction de l'obésité serait due à l'établissement d'un hyperinsulinisme persistant. Quant à ROZENBAUM et coll., ils mettent en cause trois mécanismes synergiques:

- une discrète rétention hydrosodée, liée à l'absorption stéroïdique.
- une action protéo-anabolisante également modérée.
- et surtout une stimulation de l'appétit dont le mécanisme est assez complexe: nécessité d'alimenter les besoins de l'anabolisme protéique, élévation de l'insulinémie et aussi action directe sur les centres hypothalamiques de la faim, bien localisés par les expériences stéréotaxiques de BROBECK et INGRAM.

III - VIRILISATION:

Phénomène signalé par un petit nombre d'auteurs et que nous retrouverons au chapitre suivant.

IV - LACTATION:

Le bilan de leurs connaissances établi, CAILLARD et coll. 1968 (37) sont amenés à penser que le noréthynodrel, ainsi que d'autres anovulatoires, peuvent entraîner chez le rat, un développement du système lobulo-alvéolaire et une activité sécrétoire. Certains auteurs avancent alors l'hypothèse d'une stimulation de la libération de la prolactine hypophysaire par les anticonceptionnels .

V - MUCUS CERVICAL:

Ses modifications seront également reprises au chapitre suivant.

VI - METABOLISME GLUCIDIQUE:

Ultérieurement également, nous serons amenée à envisager la diminution de la tolérance aux hydrates de carbone entraînée par les associations oestro-progestatives.

VII - CONSTANTES SANGUINES:

ROZENBAUM et coll. 1969 (272) admettent que les perturbations lipidiques constatées lors de la prise des anticonceptionnels semblent liées surtout au composé oestrogénique puisque l'administration isolée de celui-ci est capable de les provoquer, mais ils ne savent pas encore s'il existe à ce sujet une différence marquée entre l'éthinyl-oestradiol et le mestranol. Toutefois, les variations de réceptivité individuelle étant assez marquées, il est nécessaire de les déceler en pratiquant un dosage des lipides totaux avant et après plusieurs mois de traitement .

Comme nous le verrons plus loin, plusieurs auteurs discernent au cours du traitement, une augmentation des facteurs de coagulation, mais MEARS 1968 (199) attire l'attention sur le fait qu'au cours de grossesses normales, ces facteurs sont aussi élevés et ceci sans qu'il y ait modification du pourcentage des accidents thrombo-emboliques (ceux-ci en effet, s'ils doivent survenir, se manifestent au moment de l'accouchement).

Enfin, toujours au sujet des accidents thrombo-emboliques, MAUVAIS-JARVIS et coll. 1969 (193) notent que le risque de tels inconvénients semble aggravé par l'obésité .

VIII - CYCLE MENSTRUEL:

1°) Aménorrhées:

Bien que ces aménorrhées soient fonction de la sensibilité particulière de chaque individu, ROZENBAUM et coll. 1969 (272) se demandent toujours si elles sont attribuables à une sensibilité des centres hypothalamiques aux stéroïdes hormonaux. Enfin, après les quatre cas de DODEK et coll. 1967 (66), les 21 cas de SHEARMAN 1968 (294) et les deux nouveaux cas publiés par RANKIN 1969 (256), la pathogénie de ce syndrome peut être comprise comme une perturbation prolongée du délicat système hypothalamo-hypophyso-ovarien, qui permet la croissance folliculaire et l'ovulation. Quant à DICKEY et coll. 1969 (61), ils attribuent les pseudo-aménorrhées soit à la pénurie d'oestrogène dans le cas d'un régime combiné, soit à la pénurie de progestagène dans le cas d'un traitement séquentiel.

2°) Flux menstruel:

Il est très réduit, comme ont pu l'établir, entre autres chercheurs, RICE-WRAY et coll. 1962 (260) et GOLDZIEHER et coll. 1962 (109) et ceci serait dû d'après RYAN et coll. 1964 (277) à l'extrême amincissement de l'endomètre survenant fréquemment après un certain temps de traitement.

3°) Endomètre:

L'aspect histologique de l'endomètre, étudié par RUDEL et

coll. 1966 (274) dépend de l'effet anti-oestrogénique du progestagène. De plus, certains auteurs dont ROLAND et coll. 1966 (270) ont mis en évidence une interaction entre l'effet stimulant de l'oestrogène et l'effet inhibiteur du progestagène. La réaction déciduale du scroma varie en fonction inverse de la dose du progestagène administrée, surtout pour la chlormadnone et la noréthindrone (GHNASSIA et coll. 1968)(104) .

Un peu plus tard, BAULIEU 1968 (16) attribue les modifications endométriales aux oestrogènes, pour la première partie proliférative du cycle, et à la progestérone pour la phase sécrétoire post-ovulatoire. Les différentes formules contraceptives sont donc amenées à influencer l'utérus de façon différente, et c'est ainsi que l'administration combinée d'un oestrogène et d'un progestatif se caractérise par une prompte régression de l'endomètre, après une succession rapide d'états prolifératif et progestatif, alors que la méthode séquentielle (administration d'un oestrogène seul, puis de la combinaison oestrogène plus progestatif) entraîne au contraire, une prolifération de l'endomètre puis un état sécrétoire très net, suivi d'un flux menstruel presque normal (GHNASSIA et coll. 1968)(104) .

Notons que MEARS 1965 (198) spécifie qu'avec cette méthode séquentielle, l'évolution générale et le saignement ressemblent à ce qui se passe chez les femmes non traitées .

X - EFFETS SUR LES GLANDES ENDOCRINES:

Bien qu'aucune action néfaste des contraceptifs oraux n'ait été signalée dans ce domaine, selon ROZENBAUM et coll. 1969 (272), il importe de savoir que les composés oestrogéniques et les composés progestatifs sont susceptibles de modifier les liaisons hormone-protéine transporteuse dans le sang circulant.

En effet, CHOLLET 1969 (46) signalent que différents auteurs tels que NICOLAI, SEAL, JONES ont observé une augmentation sensible de la concentration sérique de TBG (Thyroxine-Binding Globulin ou Transthyroxine) après administration d'oestrogènes. De même, ROBBINS et coll. ont montré en 1967 (267) que les oestrogènes et le noréthynodrel augmentaient la capacité du TBG alors que la noréthindrone augmentait celle du TBPA (Thyroxine-Binding Pre-Albumin). Et CHOLLET conclue que le pourcentage de thyroxine libre est significativement abaissé et la capacité du TBG nettement augmentée chez les femmes traitées aux oestro-progestatifs. Les antiovulatoires suffisent donc à reproduire les effets de l'administration d'oestrogènes de fortes doses sur les composantes du transport sanguin des hormones thyroïdiennes .

Il s'ensuit que certains examens de laboratoire (mesure de l'iode protidique sanguin, de la cortisolémie) sont difficilement interprétables pendant le traitement et il faudra donc les demander seulement quatre à six semaines après interruption des contraceptifs.

- - -

CHAPITRE VI

TRAITEMENTS A LONG TERME

L'inhibition hormonale de l'ovulation est employée maintenant depuis plus de 13 ans puisque les premiers essais ont été réalisés par PINCUS et ses associés à Porto-Rico en 1955 (PINCUS et coll. 1958) (243).

Chez de nombreuses patientes, elle a été poursuivie pendant de longues années, mais l'inocuité de ces médications contraceptives n'est pas encore assurée et l'absence d'inconvénient à long terme restera incertaine et causera encore quelque anxiété pendant une vingtaine d'années.

En plus des effets secondaires plus précoces que nous avons passés en revue précédemment, deux graves risques sont à évoquer d'emblée : celui des malformations foetales d'une part, et celui d'une possible carcinogénèse d'autre part.

I - EFFETS SECONDAIRES A LONG TERME

1°) Effets secondaires bénins :

Nous allons examiner tout d'abord l'évolution de quelques phénomènes bénins tels qu'on en observe pendant la grossesse.

COOK et coll. 1961 (49) rapportent que 65 % de leurs patientes de Porto-Rico se plaignent des effets secondaires du noréthynodrel, alors que 36 % seulement des patientes de RICE-WRAY et coll. 1962 (260), traitées cycliquement avec de la noréthindrone, pendant une période de 32 cycles, formulent une plainte légère pouvant être attribuée au traitement. Ces derniers auteurs remarquent que les réactions diminuent avec la poursuite du traitement. C'est ainsi que l'urticaire n'est pas reproché après le 2^e cycle, l'acné disparaît après le 6^e, les migraines après le 14^e. Aucune plainte concernant les douleurs abdominales et les nausées n'est recueillie

après le 16e cycle. Les bouffées de chaleur augmentent jusqu'au 18e, puis diminuent en fréquence et disparaissent après le 27e cycle de traitement.

Lorsque le contraceptif est une association d'éthinyl-oestradiol et d'acétate de noréthistérone, à raison de 0,01 mg d'éthinyl-oestradiol et de 10 mg d'acétate de noréthistérone pour le SH 637 et de 0,05 mg d'éthinyl-oestradiol et de 4 mg d'acétate de noréthistérone pour l'ANOVLAR*, tous deux utilisés par BOCKNER 1963 (22) chez les Australiennes pendant des périodes de 12 à 24 cycles, on constate l'apparition de migraines, de nausées et une congestion douloureuse des seins dans 30 % des cas lors du premier cycle de traitement, les deux premières réactions étant de loin les plus communes ; leur occurrence tombe brusquement lors du 4e cycle et cesse complètement après le 7e cycle. Il est à remarquer qu'il n'y a pas d'augmentation de l'incidence de ces réactions quand l'ANOVLAR* est utilisé à la place du SH 637.

Par contre, si qualitativement, les effets secondaires observés avec des comprimés d'ORTHO-NOVUM* : 2 mg de noréthindrone plus 0,1 mg de mestranol, semblent ressembler à ceux des comprimés à 10 mg de noréthindrone plus 0,1 mg de mestranol, d'après les travaux d'HUTCHERSON et coll. 1963 (142) et RINGROSE 1963 (265) qui ont expérimenté les deux produits, l'incidence des inconvénients est nettement réduite avec le plus faible dosage.

Au cours de ses études, SWYER 1964 (313) commença à utiliser l'acétate de noréthistérone en 1959, la dose étant alors de 10 mg plus 0,01 mg d'éthinyl-oestradiol. Sur cinq femmes étudiées avec 34 cycles de traitement, une se plaignit d'engourdissements au niveau d'une main et une autre de céphalées et de douleurs abdominales accompagnant une menstruation intercurrente. Entre temps, les études de PEETERS et coll. 1960 (237) avaient indiqué qu'une combinaison de 4 mg d'acétate de noréthistérone et de 0,05 mg d'éthinyl-oestradiol, spécialisée sous le nom d'ANOVLAR*, était bien tolérée et efficace. L'auteur commença alors à utiliser l'ANOVLAR*. Sur 25 de ses patientes avec un maximum de 12 cycles de traitement par patiente, il n'y eut aucun cas de nausée mais quatre se plaignirent de dépression, une de céphalées et une d'un malaise général léger. La fréquence globale de ces troubles fut de 18 % au cours du premier cycle et tomba à 9 % au 6e cycle.

MULLER 1965 (209) note que tous ces troubles, plus importants en cas d'administration continue du produit contraceptif, ont toujours tendance à s'atténuer et à disparaître presque complètement après quelques mois.

Au cours des traitements réalisés avec l'ORTHO-NOVUM* par HUTCHERSON et coll. 1966 (143) sur une base cyclique et pendant des périodes de temps variées, le maximum étant de 31 cycles menstruels, l'incidence des effets secondaires a été faible. La plainte la plus fréquente concerne les nausées (2,9 %), généralement faibles et plus perceptibles les matins, rarement accompagnées de vomissements. Cette réaction, prédominante dans le premier mois a habituellement disparu à la fin du 2e mois. La deuxième plainte survenant dans 1,6 % des cas est relative au grossissement des seins et à leur sensibilité. L'impression de nervosité est rapportée par 1,3 % des patientes, la fatigue et les migraines par 1,1 %. Quelques plaintes diverses concernant la sécrétion des seins, la sècheresse de la peau, une réaction allergique, de l'oedème, un chloasme, des crampes abdominales, une aggravation de la fièvre, de la diarrhée, des douleurs pelviennes et de la fatigue sont formulées.

Plus récemment, un nouveau progestatif, le norgestrel, cliniquement proche de la noréthistérone et de son isomère le noréthynodrel, préparé par synthèse totale et dont la fraction *d* du mélange racémique est seule active biologiquement, a été administré, associé à l'éthinyl-oestradiol (0,5 mg de norgestrel plus 0,05 mg d'éthinyl-oestradiol ou FH 122) pendant un à 18 cycles par THOYER-ROZAT et coll. 1968 (320). Ces auteurs signalent un pourcentage de 30,8 % de troubles digestifs (nausées et vomissements). Les nausées surviennent habituellement pendant quelques jours au cours du 1e et du 2e cycle. Elles sont parfois plus tenaces mais seulement les premiers jours de chaque cycle successif. Quant aux troubles psychologiques, ils sont difficiles à schématiser: exagération d'une neurotonie antérieure, sensation de tension intérieure ou au contraire asthénie et somnolence.

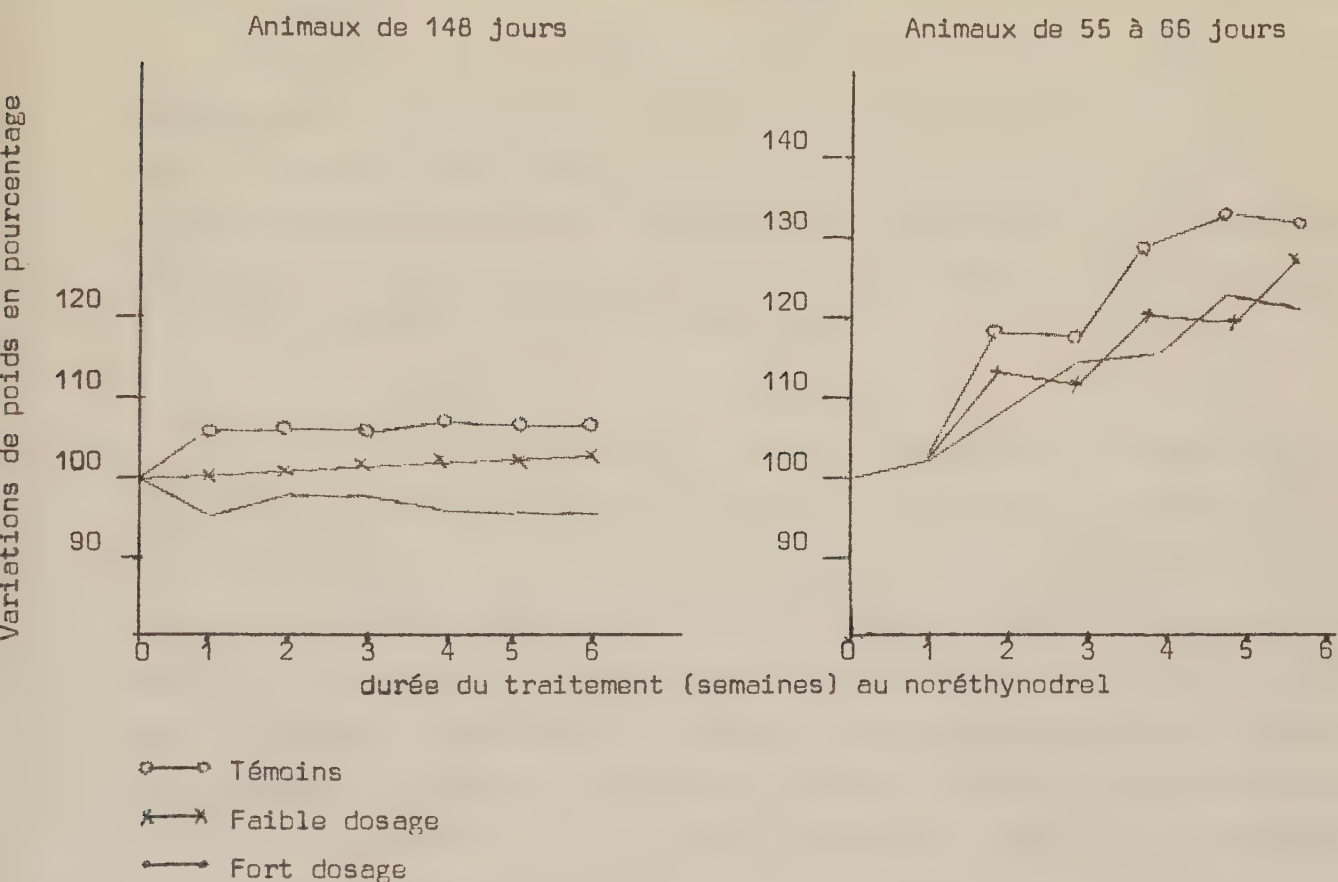
Enfin, il semble que les incidents tels que céphalées, migraines et nausées entraînés par la prise de fortes doses d'oestro-progestatifs, diminuent cependant lors d'un traitement prolongé, comme a pu le noter KIRCHHOFF 1968(158).

2°) Variation de poids :

Les modifications de poids ne sont pas négligeables mais tandis que les expériences sur les animaux révèlent une diminution du poids corporel, chez la femme, c'est au contraire, un gain de poids qui est le plus fréquemment observé : PINCUS et coll. 1959 (245), TYLER et coll. 1959 (324), MORRIS 1961 (207), RICE-WRAY et coll. 1962 (260), BOWMAN 1962 (26), ANDREWS et coll. 1962 (6), GOLDZIEHER et coll. 1962 (109), MEARS et coll. 1962 (195), BOCKNER 1963 (22), SWYER 1964 (313), HUTCHERSON et coll. 1966 (143), THOYER-ROZAT et coll. 1968 (320).

L'effet sur des rats adultes de l'administration prolongée d'une

préparation purifiée de noréthynodrel a été décrit par SAUNDERS et coll. 1958 (284). Le traitement, 0,5 mg par Kg injecté chaque jour pendant 30 jours, entraîne une réduction du poids des mâles mais a un effet relativement faible sur celui des femelles. Plus tard, HOLMES et coll. 1962 (138) précisent que les réductions ainsi obtenues dépendent de l'âge des animaux. C'est ainsi que le même progestatif administré à des doses de 1 mg et 0,2 mg par jour pendant 48 à 86 jours, diminue le développement de rats âgés de 55 à 66 jours tandis qu'il entraîne seulement un léger amaigrissement chez les adultes de 148 jours. (courbe n° 1) .



Courbe n° 1 : donnée par HOLMES et coll. 1962 (138) .

Chez la femme, les expériences de RICE-WRAY et coll. 1962 (260) démontrent qu'un traitement prolongé entraîne dans 58 % des cas, une prise de poids pouvant excéder 4 kg chez 2,5 % des femmes et dans 15 % des cas, une diminution; 27 % des patientes ne subissent aucun changement. Une augmentation de 4 à 5 kg pendant les premiers six cycles de traitement est trouvée dans 40 % des cas par BOCKNER 1963 (22). Presque toutes ses patientes retournent à la normale au cours des cycles suivants mais le plus souvent à l'aide d'une diète. D'après SWYER 1964 (313) les augmentations de poids ne dépassent pas 2,4 kg et les diminutions 2,7 kg, le résultat global étant voisin de zéro. Ces chiffres sont confirmés par les recherches de HUTCHERSON et coll. 1966 (143) qui

observent un gain de poids chez 46,5 % de leurs patientes, ce gain ne dépassant pas 2,5 kg chez 20 % d'entre elles et 5 kg chez seulement 8,2 %. A noter qu'il atteint 10 kg dans 1 % des cas. Une perte de poids est rapportée par 24,4 % des patientes. Cependant, elle est inférieure à 2,5 kg dans 17,5 % des cas et excède 5 kg dans seulement 2,3 %, 1 % environ des patientes perdant 10 kg et plus. En revanche, THOYER-ROZAT et coll. 1968 (320) citent seulement une prise de poids dans 6 % des cas, prise de poids ne dépassant jamais 2 kg.

3°) Virilisation :

Un autre inconvénient théoriquement possible de l'usage prolongé des contraceptifs oraux est la possibilité d'une virilisation. SWYER 1964 (313) et PEETERS 1964 (238) n'en ont constaté aucune chez les femmes traitées avec l'ANOVLAR* pendant des périodes prolongées. DRILL 1965 (71) déclare le noréthynodrel dépourvu d'effets androgéniques, à la fois chez les animaux et chez les femmes, THOYER-ROZAT et coll. 1968 (320) n'observent aucun signe de virilisation après traitement au FH 122. Seuls HUTCHERSON et coll. 1966 (143) rapportent l'apparition de poils sur le visage de trois de ses patientes sur 618 après traitement prolongé à l'ORTHO-NOVUM*.

4°) Lactation :

Si RICE-WRAY et coll. 1962 (260) et 1963 (261) constatent une diminution ou un arrêt de la lactation dans 32,5 % des cas au cours d'un traitement cyclique à l'ORTHO-NOVUM 10 mg*, et si SATTERTHWAITTE et coll. 1962 (280) employant l'ENOVID 5* et 10 mg* observent le même phénomène durant le 1^e et le 2^e cycle, par contre, SHAH 1966 (290) signale que ses patientes sous médication combinée ne se plaignent d'aucune baisse de sécrétion, alors que deux sur 106 sous thérapeutique séquentielle ressentent d'une manière précise une diminution de la sécrétion lactée au cours du 2^e et 3^e cycle. Cependant, même après prolongation du traitement, il n'y eu pas de suppression totale de la lactation.

5°) Mucus cervical :

En ce qui concerne le mucus cervical, RYAN et coll. 1964 (277) constatent une hypersécrétion des glandes endocervicales après traitement cyclique à l'ENOVID 5 mg*, révélée cliniquement par une augmentation de la décharge vaginale. Les changements glandulaires sont accidentels au cours des premiers six cycles de traitement mais ils sont constamment présents lorsque la médication est poursuivie. Toutefois, THOYER-ROZAT et coll. 1968 (320) administrant le FH 122 révèlent la disparition régulière de la glaire cervicale.

6°) Métabolisme glucidique :

LEBHERZ et coll. 1961 (167) mentionnent le cas d'une patiente diabétique avec endométriose dont le diabète est difficile à maîtriser quand

elle absorbe de l'ENOVID^{*}. En 1963, dans CURRENT PRACTICE (211), toutes les courbes de tolérance du glucose des 14 patientes, traitées avec CONOVID E^{*} sont normales. Une seule courbe fait exception, celle d'une patiente qui, en dehors de tout traitement contraceptif, a une légère tendance à une condition prédiabétique. GERSHBERG et coll. ont montré en 1964 (103) qu'il pouvait se produire une modification du test de tolérance au glucose chez certaines femmes qui absorbaient des contraceptifs oraux, mais l'expérimentation de MEARS 1968 (199) a révélé que ces femmes avaient des courbes de type prédiabétique avant l'utilisation des contraceptifs et que ceux-ci semblaient simplement accélérer la survenue de cet état chez des femmes prédisposées.

Il semblerait donc, et c'est aussi ce que pense KIRCHHOFF 1968 (152), que le risque d'apparition d'un diabète occasionné par la prise de contraceptifs serait moins important que celui que pourrait procurer la survenue d'une grossesse.

Notons cependant que ROZENBAUM et coll. 1969 (272) observent une diminution de la tolérance aux hydrates de carbone entraînée par les associations oestro-progestatives ; MAUVAIS-JARVIS et coll. 1969 (193) révèlent même que les perturbations du métabolisme glucidique qui portent sur la diminution de la tolérance au glucose (mesurée par hyperglycémie provoquée) et sur la réponse insulinique plasmatique, varient avec la durée d'utilisation du contraceptif. Ainsi, entre zéro et douze mois, la fréquence des altérations de l'hyperglycémie provoquée orale augmente jusqu'à frapper 30 % de la population. Entre douze et quarante mois, elle reste à peu près constante, puis augmente à nouveau brutalement pour atteindre environ 80 % de la population après soixante mois d'utilisation.

Quant à l'augmentation de l'insulinémie plasmatique, elle reste grossièrement proportionnelle à la diminution de la tolérance au glucose au cours des vingt premiers mois. Ensuite, elle retombe à un niveau normal, bas et à partir du trentième mois aucune corrélation statistique valable ne peut plus être trouvée entre l'insulinémie et l'intensité des anomalies de la tolérance aux hydrates de carbone.

7°) Les constantes sanguines :

D'après PINCUS et coll. 1958 (243) et COOK et coll. 1961 (49), l'usage de l'ENOVID^{*} est sans effet sur la pression sanguine et sur l'hémoglobine. De plus, PINCUS 1961 (246) précise que le nombre de globules

blancs reste inchangé et RICE-WRAY et coll. 1962 (260) constatent que l'ORTHO-NOVUM* après 12 à 24 cycles d'administration ne provoque aucun changement significatif dans la numération sanguine ; enfin, GRASSEf et coll. 1962 (117) révèlent que l'administration de noréthynodrel et de noréthindrone pendant 24 cycles ne semble pas avoir d'incidence importante sur l'état humoral de leurs patientes.

Le calcium, selon HUTCHERSON et coll. 1966 (143), est très rarement augmenté de façon marquée. Au contraire, les lipides et les fractions lipoprotéiques du sérum subissent des changements dans leur métabolisme et leur transport. L'administration d'oestrogènes synthétiques, comme ont pu le constater FURMAN et coll. 1954 (93), OLIVER et coll. 1954 (228), RUSS et coll. 1955 (276), HOOD et coll. 1959 (141), entraîne une diminution des lipoprotéines de faible densité et, simultanément, une augmentation des lipoprotéines de haute densité, tandis que les différents androgènes synthétiques exercent l'effet opposé (FURMAN et coll. 1958) (94). Quand la thérapeutique oestrogène est associée avec l'administration d'androgènes actifs oralement, RUSS et coll. 1955 (276), OLIVER et coll. 1956 (229), HOOD et coll. 1959 (141), CRAMER 1961 (51) et 1962 (52) observent une augmentation aiguë des lipoprotéines de faible densité accompagnée d'une diminution des lipoprotéines de haute densité. Au contraire, les combinaisons d'oestrogènes et d'androgènes survenant naturellement n'ont montré aucun renversement du changement induit par l'oestrogène dans le transport des lipides (HOOD et coll. 1959) (141). En ce qui concerne les contraceptifs oraux, association d'un oestrogène et d'un gestagène synthétique, PINCUS 1965 (249) étudiant l'ENAVID* (noréthynodrel plus mestranol) ne met en évidence aucun changement dans les taux de lipoprotéines de faible densité après un an de traitement mais AURELL et coll. 1966 (9), ROZENBAUM et coll. 1969 (272) et MAUVAIS-JARVIS et coll. 1969 (193), après un an d'administration d'ANOVLAR*, remarquent une augmentation significative des lipides du sérum, spécialement dans les lipoprotéines de faible densité. Celles-ci atteignent 36 % de leur valeur initiale alors que les lipoprotéines de haute densité accusent un changement moins régulier.

RAPPAPORT 1962 (257) et EGEBERG et coll. 1963 (77) notent une légère augmentation de la prothrombine, de la proconvertine, du facteur Stuart et du fibrinogène dans le sang de leurs patientes sous contraceptifs oraux ; l'augmentation du fibrinogène a aussi été rapportée par HUTCHERSON et coll. 1966 (143). ROZENBAUM et coll. 1969 (272) constatent avec des préparations fortement dosées, une élévation des facteurs VII, VIII, X, une modification de l'adhésivité plaquettaire, une élévation de l'activité

fibrinolytique du plasma. Mais ces modifications seraient moins inconstantes avec les faibles dosages utilisés actuellement. Un peu plus tard, MAUVAIS-JARVIS et coll. 1969 (193) confirment la modification de l'adhésivité plaquettaire et précisent qu'il s'agit d'une augmentation discrète et passagère disparaissant avec la prolongation du traitement .

RICE-WRAY et coll. 1962 (260) ne décèlent aucun changement du temps de coagulation après 24 cycles de traitement et PEETERS 1964 (238) déclare que l'étude de l'action des inhibiteurs de l'ovulation sur les facteurs de la coagulation du sang a permis d'écarter tout rapport causal entre l'emploi de ces produits et l'apparition de thrombophlébites. SWYER 1964 (313) moins catégorique, signale quelques cas d'inflammation veineuse pouvant être liés directement aux gestagènes. Cependant, KISTNER 1960 (155) et RIVA et coll. 1962 (266) après administration de hautes doses d'ENOVID* (40 mg par jour) pendant plusieurs mois, n'observent aucun cas de thrombophlébites. RYAN et coll. 1964 (277) ne décèlent aucune augmentation de leur incidence et WALSH et coll. 1965 (338) s'ils remarquent quelques accidents de thromboses artérielles, spécifient qu'ils n'ont mis en évidence aucune preuve de l'augmentation de leur fréquence .

Le rapport officiel en 1963 (2) d'un comité "*Ad hoc*" constate qu'il n'y a aucune augmentation significative du risque de mort par embolie. Trois exemples de thrombus sont rencontrés par RYAN et coll. 1964 (277) sur 27 patientes traitées à l'ENOVID* ; deux d'entre eux sont localisés dans les veines de l'ovaire mais le fait qu'ils ne soient pas complètement organisés indiquerait leur récente origine et leur occurrence probable au cours des 15 et 18 cycles de traitement . Le troisième thrombus est situé dans la veine utérine gauche mais après un traitement de 13 cycles, il est déjà bien organisé et par conséquent n'a pu se fixer pendant l'administration des contraceptifs oraux .

En 1965, NAYSMITH (219) soulève la question des thromboses coronaires et en 1968, KIRCHHOFF (152) estime que bien que le traitement contraceptif hormonal ne semble pas augmenter le risque de thromboses, on ne doit pas éliminer formellement sa responsabilité dans leur ~~génése~~ car son rôle ne peut encore aujourd'hui être connu objectivement et définitivement .

8°) Caractéristiques du cycle menstruel :

a) Aménorrhées :

BOCKNER dès 1963 (22) signale que l'aménorrhée est un symptôme fréquent, apparaissant chez 21 % de ses patientes mais elle survient seulement dans 2 % des cycles. SWYER 1964 (313) l'observe lui aussi dans 2 % des cycles des patientes sous contraceptif depuis un an; KIRCHHOFF et HALLER entreprenant dès 1963 (153) des recherches sur les effets secondaires dus à

l'ANOVLAR^{*}, révèlent en 1968 (152) une incidence de l'aménorrhée dans 1,8 % des cycles et HOLMSTROM 1965 (140), SHEARMAN 1966 (293), GUEGUEN 1968 (125) et ROZENBAUM et coll. 1969 (272) constatent que la plupart de leurs patientes traitées pendant des périodes de 12 à 36 cycles éprouvent aussi une aménorrhée de durée variable et indépendante de la durée du traitement (Tableau II). Ordinairement, de telles aménorrhées durent de 6 à 8 semaines mais elles peuvent se prolonger au delà de 6 mois, surtout si la patiente est sous thérapeutique continue.

Enfin, des aménorrhées prolongées, 4 à 6 mois, consécutives à l'arrêt des contraceptifs, ont également été observées par ROZENBAUM et coll. 1969 (272) mais beaucoup plus rarement.

Patiente	Age	Cycle menstruel avant les contraceptifs oraux	Traitement	Durée de l'aménorrhée
1	27	Irrégulier 1- 3 mois	ANOVLAR 3 mois	21 j.
2	29	Régulier 28 jours	LYNDIOL 18 mois	15 j.
3	23	Irrégulier 2- 8 mois	ANOVLAR 3 ans	13 j.
4	24	Régulier 28-30 jours	PROVEST 17 mois	14 j.
5	26	Régulier 28 jours	CONOVID-E 2 ans	12 j.
6	23	Irrégulier 2- 3 mois	ANOVLAR 6 mois	20 j.
7	27	Régulier 28 jours	ANOVLAR 7 mois	12 j.
8	24	Régulier 28 jours	ANOVLAR 3 ans	25 j.
9	22	Régulier 28 jours	ANOVLAR 2 ans	12 j.

Tableau II : Expériences réalisées par SHEARMAN 1966 (293).

b) Dysménorrhées :

RICE-WRAY et coll. 1962 (260) observent une diminution des dysménorrhées chez la majorité des patientes souffrant de cette affection avec un complet soulagement dans 18,7 % des cas et au contraire une augmentation de la douleur menstruelle dans 6 % des cas. Ces découvertes sont comparables à celles rapportées par PINCUS et coll. 1958 (243), COOK et coll. 1961 (49) et BOCKNER 1963 (22), ce dernier observant que sur les 58 femmes se plaignant de dysménorrhées avant le début du traitement, 36 sont guéries, 7 montrent une amélioration et 14 ne constatent aucun changement.

c) Flux menstruel :

D'après RICE-WRAY et coll. 1962 (260), GOLDZIEHER et coll. 1962 (109), BOCKNER 1963 (22), HUTCHERSON et coll. 1963 (142) et

1966 (143), THOYER-ROZAT et coll. 1968 (320), le flux menstruel diminue dans un grand nombre de cas (54,4 % des patientes de RICE-WRAY, 34,8 % des patientes de HUTCHERSON et coll. 1966 et 14 % chez celles de THOYER-ROZAT) en quantité et en durée - SWYER 1964 (313) note une hémorragie menstruelle de 1 à 7 jours - pendant les tous premiers mois du traitement, et ensuite se stabilise. Cependant, tous ces auteurs notent aussi une augmentation du flux dans 2 à 3 % des cas. BOCKNER précise que le sang menstruel est plus sombre et prend quelquefois un aspect "goudronneux".

D'autre part, les essais réalisés avec le SH 637 et l'ANOVLAR* montrent qu'avec les comprimés de faible dosage (ANOVLAR) le flux menstruel se rapproche beaucoup plus de la normale, alors qu'avec le SH 637 les femmes ont des règles très faibles.

d) "Breakthrough bleeding" :

L'écoulement sanguin accompagnant une thérapeutique cyclique est relativement commun. Il survient chez le tiers des patientes de RICE-WRAY et coll. 1962 (260) mais dans seulement 2,4 % des cycles. La moitié des cas consiste seulement en un "spotting" et après le 19e cycle, il ne reste plus que deux cas d'écoulement intermenstruel sur les 102 observés primitivement. SWYER 1964 (313), HUTCHERSON et coll. 1966 (143), KIRCHHOFF 1968 (152) signalent des saignements intermenstruels dans 6 à 6,5 % des cycles et le dernier auteur, confirmant les expériences de RICE-WRAY, remarque que la tendance au saignement est plus grande pendant les premiers cycles et diminue fortement avec la poursuite du traitement. Ainsi, le saignement survient chez 6,8 % des patientes au cours du premier cycle et dans approximativement 5,5 % pendant les 4 cycles suivants. Pendant le 5e mois, l'incidence décline fortement, atteignant des proportions minimales après le 12e mois. BOCKNER 1963 (22) fixe la date moyenne de l'occurrence de l'écoulement sanguin entre le 15e et le 18e jour et assure que la quantité de sang peut varier d'un écoulement faible à un écoulement identique à celui des règles après le 10e jour.

c) Longueur du cycle :

RICE-WRAY et coll. 1962 (260), comparant leurs travaux avec ceux de GOLDZIEHER et coll. 1947 (108) dans lesquels ces derniers constatent que la longueur du cycle menstruel normal est de 26 à 28 jours dans 67,3 % des cas et de 24 à 31 jours dans 95,8 %, concluent qu'un traitement aux contraceptifs oraux permet aux cycles de devenir plus régulier, le premier cycle suivant l'arrêt du traitement tendant toujours à être

prolongé alors que les autres cycles sont raccourcis. BOCKNER 1963 (22) et SWYER 1964 (313) constatent que la longueur du cycle reste remarquablement constante entre 25 et 27 jours à partir du second jusqu'au 15e cycle dans 80 à 90 % des patientes et qu'elle augmente ensuite jusqu'à 26 à 28 jours chez 90 à 100 % des patientes au cours des cycles 16 à 24. De même, AUDEBERT et coll. 1968 (8) citent une longueur habituelle du cycle de 28 jours après traitement à l'OVULEN*.

f) Ménopause :

On a exprimé la crainte que la mise au repos de l'ovaire ne recule l'âge de la ménopause et ne prolonge la durée de la fertilité mais rien jusqu'à présent n'est venu la justifier. Au contraire, deux arguments présentés par SWYER 1964 (313) et LUMBROSO et coll. 1965 (176) lui sont opposés : l'âge de la ménopause est normal chez des femmes ayant eu un grand nombre d'enfants, alors que, de ce fait, les ovaires ont été au repos fonctionnel pendant de nombreuses années, et le processus d'atrésie folliculaire se poursuit normalement pendant le traitement. Aussi, MEARS 1968 (199) conclut que le traitement ne semble pas prolonger ou modifier l'âge auquel se poursuit la ménopause.

g) Les modifications de l'endomètre :

Des biopsies ont été effectuées avant tout traitement, entre le 20e et le 23e jour du cycle par BONHOMME et coll. 1967 (23). Les fragments analysés sont abondants. Les tubes glandulaires, nombreux et réguliers sont dilatés. A la partie basale des cellules se trouve du glycogène. Le stroma est important, hyperplasique, peuplé de fibroblastes et de cellules réticulaires. Les artérioles spiralées commencent à se différencier.

Sous l'action du contraceptif, les mêmes auteurs constatent que l'endomètre subit une atrophie glandulaire telle, que souvent, dès le 3e cycle, la biopsie ne ramène aucun fragment susceptible d'être examiné ; de même, NETTER et coll. 1967 (223) signalent que, dans 12 cas sur 20 traités à la NORGESTRIENONE, la sonde de NOVAK ne ramène aucun fragment, dans 4 cas, l'endomètre est atrophique mais on reconnaît une sécrétion glandulaire, dans 3 cas, l'endomètre ressemble à un stade folliculinique hypoplasique non sécrétoire.

L'amincissement de l'endomètre, la disparition du glycogène, des artères spiralées, des épines conjonctives et de l'image en "dentelle utérine", l'apparition plus précoce de l'oedème et des vacuoles

basales, l'absence de migration des noyaux des cellules des tubes glandulaires, l'épuisement sécrétoire des glandes avec prépondérance de la croissance du stroma conférant à la muqueuse un aspect prédécidual, tous ces caractères ont été remarqués par GARCIA et coll. 1958 (96), PINCUS et coll. 1958 (243), HOLMES et coll. 1962 (139), RICE-WRAY et coll. 1962 (260), GRASSET et coll. 1962 (117), MAQUEO et coll. 1963 (183), RICE-WRAY et coll. 1963 (262), SWYER 1964 (313), PEETERS 1964 (238), MEARS 1965 (197), COHEN 1965 (48), LUMBROSO et coll. 1965 (176), OMS... 1966 (230), RAVINA 1966 (259), FLOWERS et coll. 1966 (85), RUDEL et coll. 1966 (274), BONHOMME et coll. 1967 (23), VILLEDIEU et coll. 1967 (330), ALESSANDRESCU et coll. 1968 (4), ROZENBAUM et coll. 1969 (272). Leurs expériences ont été réalisées à l'aide de divers anticonceptionnels tels que l'ENAVID*, l'OVARIOSTAT*, les associations mestranol : 0,15 mg plus lynestrénol : 5 mg, éthinyloestradiol : 0,01 mg plus acétate de noréthistérone : 10 mg ; et la plupart des auteurs affirment que l'endomètre est toujours capable de retrouver, un à trois mois après l'arrêt du traitement, sa structure normale ainsi que sa capacité d'assurer la nidation de l'ovule fécondé.

D'autres chercheurs ont entrepris une étude histologique encore plus poussée, réalisant des biopsies à différents stades du cycle pendant plusieurs cycles.

Ainsi, après traitement à l'ENOVID*, RYAN et coll. 1964 (277) remarquent la présence de glandes clairsemées et droites tout le long du cycle avec quelques figures de mitoses pendant les 5 premiers jours. Des changements prédéciduaux faibles sont notés le 7^e mais ils ne progressent jamais jusqu'à une prédécidue entièrement développée et ils sont rarement vus après le 13^e jour. Un oedème léger apparaît autour du 8^e jour mais il ne s'accroît pas et il finit par disparaître le 17^e jour. Une activité sécrétoire se manifestant vers le 9^e jour par des vacuoles subnucléaires progresse à travers des phases de sécrétion active et d'épuisement sécrétoire mais est stoppée le 20^e jour. Seules des glandes épuisées et inactives, avec de légères dilatations accidentelles, sont alors observées dans la dernière moitié du cycle.

D'après RICE-WRAY et coll. 1962 (260), ces changements augmenteraient graduellement jusqu'à la fin de la première année et tendraient ensuite à rester stationnaires. RICE-WRAY et coll. 1963 (262) confirment leurs résultats après avoir constaté que le développement des glandes atteint un degré stable d'involution après le 3^e cycle de traitement mais l'oedème du stroma et le changement prédécidual, même après 36

mois de traitement à la noréthindrone ou à la chlormadinone, continuent, bien que faiblement, à se développer.

Ainsi, avec le traitement à la noréthindrone, au cours du 1er cycle : une vacuolisation glandulaire marquée est observée du 8e au 10e jour, et elle disparaît presque entièrement le 17e jour. Les glandes sont alors très petites et inactives. Le stroma présente différents degrés d'oedème persistant d'un bout à l'autre du cycle et dans plusieurs cas, une réaction prédéciduale est notée.

après 3 cycles de traitement : les variations individuelles sont alors moins fréquentes. Les différentes biopsies mettent en évidence un endomètre moins épais que celui de la phase sécrétoire normale. L'oedème du stroma est modéré. La réponse aux stimuli hormonaux n'est pas aussi marquée que pendant le 1er cycle. Les glandes n'atteignent pas le même degré de développement et tendent à rester plus petites. Dans les tous derniers jours, de temps à autre, des glandes isolées et dilatées sont observées. Des changements sécrétoires, moins intenses et plus brefs, apparaissent aux environs du 8e ou 10e jour du cycle. La vacuolisation basale est rare, le développement du stroma est comparable à celui du 1er cycle. Des changements prédéciduaux précoces tendent à apparaître, mais ils sont plus faibles que dans le 1er cycle, et naturellement encore plus faibles que dans la phase sécrétrice normale.

du 6e au 36e cycle de traitement : les biopsies obtenues sont presque identiques. Les glandes de l'endomètre présentant un développement minime. Les mitoses sont absentes. Les quelques changements sécrétoires observés sont très discrets et de très faibles durées. Du 11e au 15e jour, une légère sécrétion est décelée dans la lumière d'un petit nombre de glandes mais elle disparaît dès le 23e jour. Parfois des glandes dilatées sont mises en évidence ; le stroma ne semble pas présenter plus de différences que dans le 3e cycle, la diminution de la réponse glandulaire serait accentuée.

avec le traitement à la chlormadinone, au cours du 1er cycle : l'involution glandulaire précoce et les changements sécrétoires disparaissent vite. L'oedème du stroma est plus marqué et persistant mais les changements prédéciduaux sont plus faibles.

au cours

du 3e cycle : les changements sécrétoires du 9e au 11e jour sont moins intenses et moins répandus que lors du premier cycle. Dans plusieurs cas, les vacuoles sont absentes ainsi que l'oedème du stroma. Du 14e au 16e jour, les vacuoles intraépithéliales présentes disparaissent ; une sécrétion apparaît, les cellules glandulaires retournent à un état cubique et les noyaux sont petits et denses. Du 19e au 21e jour, l'involution glandulaire est complète ; on note la présence de glandes dilatées à épithélium aplati ainsi qu'une réaction prédéciduale faible. En somme, l'involution glandulaire semble plus marquée qu'avec la noréthindrone et l'oedème est généralement plus intense et plus répandu, ce qui peut être dû au fait qu'une plus grande quantité d'oestrogène est utilisée avec ce traitement.

du 6e au

15e cycle : les changements, de même type, présentent quelques différences quantitatives méritant d'être notées. La "tortuosité" n'est jamais développée au-delà d'un degré minime, et les changements sécrétoires n'apparaissent que dans le quart des glandes. Du 14e au 16e jour, l'épithélium glandulaire conserve un stade cubique et les noyaux colorés inégalement avec l'hématoxyline semblent être pycnotiques. Le stroma accuse une diminution du nombre des cellules. L'oedème est variable, mais rarement marqué et la réaction prédéciduale est presque totalement absente. Du 24e au 27e jour, les vaisseaux examinés dans les biopsies sont dilatés et engorgés, prenant l'apparence de sinusoides. L'infiltration des leucocytes, rare, se manifeste seulement au cours de la phase finale du cycle.

Schématiquement, les modifications de l'endomètre peuvent être attribuées respectivement aux oestrogènes en ce qui concerne la première partie proliférative, et aux progestatifs pour la phase post-ovulatoire sécrétoire. Les divers modes d'administration de la "pilule" sont donc appelés à influencer l'utérus d'une manière différente. Et, en effet, au cours des traitements séquentiels, encore appelés diphasiques, l'endomètre est entièrement soumis à l'action de l'oestrogène pendant les 10 à 15 premiers jours de telle sorte que MEARS 1965 (197) observe au début des changements prolifératifs complètement développés, se réduisant légèrement après addition du progestatif.

Les biopsies antérieures au 20e jour du cycle, analysées par GOLDZIEHER et coll. 1964 (II4) montrent une prolifération précoce avec oedème léger du stroma.

- du 20e au 22e jour, cette prolifération est retardée et on n'observe aucun changement progestatif.

- le 23e jour, 48 % des biopsies montrent des changements progestatifs identiques à ceux observés le 16 ou 17e jour d'un cycle normal non traité.

- le 24e jour, 93 % des endomètres montrent ce degré de développement et 7 % seulement présentent toujours un retard de prolifération.

- le 25 et 26e jour, 97 % des endomètres sont progestationnels, le tiers correspondant en apparence à un cycle normal du 18e au 19e jour et les autres au 16e ou 17e.

Il y a souvent plus d'oedème du stroma qu'il n'est courant de voir à ces stades et les auteurs concluent qu'un traitement de 5 jours d'acétate de chlormadinone entraîne des changements progestatifs importants dans tous les cas.

En 1966, les expériences réalisées par SHAH (290) démontrent que la méthode séquentielle semble produire le type le plus physiologique d'endomètre et NETTER et coll. (221) notent des vacuoles basales de glycogène, persistant plus longtemps qu'à l'état physiologique, un épithélium assez haut, et au 24e jour du cycle, après 5 jours de chlormadinone, un stroma oedématié, mais sans hyperplasie déciduiforme, ni artérioles spiralées.

Avec la norgestriénone, les constatations de NETTER et coll. 1967 (223) se résument à la présence de glandes sécrétoires moins dentelées que normalement, à la présence d'un stroma contenant des fibres collagènes, et quelques plages de fibrose, et à l'absence de décidualisation et de vaisseaux dilatés.

BAULIEU 1968 (16) observe d'abord une prolifération endométriale puis un état sécrétoire très net au moment du saignement consécutif à l'arrêt du traitement, alors que l'administration combinée d'un oestrogène et d'un progestagène se caractérisait par une régression rapide de l'endomètre après une succession rapide d'états prolifératif et progestatif. CAILLARD et coll. 1968 (37) signalent aussi que suivant la potentialité des progestagènes, il pourra exister différents aspects histologiques rappelant à la fois l'action de l'oestrone et de la progestérone (noréthynodrel et diacétate d'éthynodiol) ou encore celle de la progestérone seule (noréthindrone).

MAUVAIS-JARVIS et coll. 1969 (193) constatent que les progestatifs par leur effet atrophiant sur l'endomètre s'opposent à l'action hyperplasique que possèdent les oestrogènes qui leur sont associés.

Enfin, ROZENBAUM et coll. 1969 (272), après utilisation des deux méthodes, concluent que les associations oestro-progestatives atrophient la muqueuse utérine alors que le traitement séquentiel, comprenant pendant 14 à 16 jours un composé oestrogénique seul, donne volontiers un aspect hyperplasique à la muqueuse utérine, au bout de quelques mois.

9°) Eliminations hormonales :

A propos des éliminations hormonales, PINCUS 1961 (246) n'observe aucun changement dans l'excrétion urinaire des 17 céto-stéroïdes, après administration prolongée d'ENOVID*, mais il signale une diminution de l'excrétion des 17 hydroxycorticostéroïdes qui serait due à une augmentation des protéines liées au cortisol dans le sang. MORRIS 1961 (207), travaillant sur le même composé, ne note, lui, aucune modification des excrétions hormonales et ses résultats sont confirmés par les expériences de RICE-WRAY et coll. 1962 (260) sur l'ORTHO-NOVUM*. Enfin, en cas de modifications de ces excrétions, CHEVALLIER 1967 (45) remarque que, même après traitement prolongé pendant de longs mois, les excrétions hormonales retournent rapidement à la normale.

10°) Effets sur les glandes endocrines :

a) La thyroïde :

D'après HOLLANDER et coll. 1963 (137), COHEN 1965 (48), l'administration prolongée d'oestrogènes, de progestatifs de synthèse et de leur association (ENOVID*) entraîne une diminution de la fixation de la triiodotyronine par les globules rouges et une augmentation de l'iode-protéique (P.B.I.), HUTCHERSON et coll. 1966 (143) mettent eux aussi cette augmentation en évidence chez 44 % de leurs patientes. MEARS qui, en 1965 (197), estimait que les contraceptifs oraux pouvaient avoir un effet délétère sur la thyroïde et qui, cependant, n'avait trouvé que peu de cas de son dysfonctionnement, signale en 1968 (199) ainsi que CHOLLET 1969 (46) une augmentation du pouvoir de fixation de l'hormone thyroïdienne sur les protéines sériques (P.B.I. : Protéine-Bound-Iodine, Iode combiné aux protéines ; T.B.G. ; T.B.P.A.).

b) Les surrénales :

SAUNDERS et coll. 1958 (284) observent une diminution de la taille des surrénales chez des rattes adultes sous contraceptifs, mais l'étude de HOLMES et coll. 1962 (138) fournit des résultats opposés. GRASSET et coll. 1962 (117) remarquent une augmentation des protéines liées au cortisol. Cependant, si les inhibiteurs de l'ovulation ont été soupçonnés de freiner les sécrétions surrénales, PEETERS 1964 (238) remarque que, en réalité, les substances hormonales utilisées n'exercent pas cet effet. Ces résultats sont confirmés par les recherches de COHEN 1965 (48). Aucune altération des fonctions surrénales n'est décelée par MEARS 1965 (197) mais en 1968 (199) elle rapporte une augmentation du cortisol plasmatique et de sa fixation, des modifications du métabolisme et du mécanisme de l'aldostérone, c'est-à-dire une augmentation de la fixation de l'aldostérone aux protéines plasmatiques autres que l'albumine, une rétention aqueuse salée et un oedème.

c) Le foie :

DRILL 1959 (69) et 1963 (70) a pu mettre en évidence, par des mesures de rétention de la B.S.P., des transaminases, de la bilirubine et de la phosphatase alcaline sérique, que l'administration de grosses doses d'ENOVID* ou d'OVULEN* à des chiens ne produit pas de changements dans la fonction hépatique. De plus, les images histologiques du foie sont normales, à la fois chez les chiens et les rats qui reçoivent ces comprimés pendant des périodes prolongées.

Des résultats similaires ont été obtenus cliniquement par PINCUS et coll. 1959 (245), RICE-WRAY et coll. 1962 (260), SWARTZ et coll. 1963 (311) et DICKINSON et coll. 1963 (62) et l'usage de l'ENOVID*, de l'ORTHO-NOVUM* et de l'OVULEN* ne produit pas de changements significatifs des tests de fonctionnement du foie. LINTHORST 1964 (172), SWAAB 1964 (308), (309), (310), RICE-WRAY 1964 (263) réalisant en plus le test de thymol-turbidimétrie, ne décèlent aucun manquement de la fonction hépatique après des traitements de 6 à 43 mois à l'ORGAMETRIL*, LYNDIOL*, LYNDIOL 2,5 et CONOVID. SHAH 1965 (289), 1966 (290), compare les résultats des tests de fonctionnement du foie des femmes traitées pendant 13 cycles au diacétate d'éthynodiol avec ceux de femmes témoins. Ces différents critères (SGOT, SGPT, Phosphatase alcaline et 5-nucléotidase) ne révèlent aucune preuve suggérant que les comprimés interfèrent avec la fonction spécifique du foie. SWYER et coll. 1965 (313 bis) ne notent aucune valeur

pathologique de la GOT, de la rétention de la BSP, de la phosphatase alcaline chez des femmes qui ont utilisé des contraceptifs oraux continuellement pendant 3 à 6 ans. Quelques résultats anormaux dans les tests de céphaline-cholestérol, rouge colloïdal, thymol-turbidimétrie, sont obtenus mais le fait qu'ils indiquent un effet hépatotoxique a été mis en doute. TAKAKI et coll. 1967 (314) trouvent une élimination normale du vert d'indocyanine chez des femmes soumises aux contraceptifs oraux. Enfin, THOYER-ROZAT et coll. 1968 (320) pratiquent différentes épreuves telles que BSP, transaminases, bilirubinémie, cholestérol, lipides totaux, galactosurie et constatent qu'elles ne montrent pas de perturbations de la fonction hépatique. Par contre, SOIVA et coll. 1963 (299), EISALO et coll. 1964 (78), après l'administration de lynestrénol et de LYNDIOL*, et PALVA et coll. 1964 (236) après l'ANOVLAR*, rapportent dans tous les cas des élévations des taux de transaminases et de la rétention de BSP, et plus rarement un taux de bilirubine sérique élevé, et une augmentation de la phosphatase alcaline. TYLER 1964 (325) et 1964 (326), après utilisation de noréthindrone plus mestranol, pendant 6 à 18 mois, constate une augmentation de la rétention de BSP dans 21 à 38 % des cas, tandis que LARSSON-COHN 1965 (162) l'observe dans 42 % des cas avec en plus une élévation de la thymol-turbidimétrie dans 11 % des cas. ADLERCREUTZ et coll. 1964 (3), SOTANIEMI et coll. 1964 (301), pendant le traitement au VOLIDAN*, CULLBERG et coll. 1965 (53) et STOLL et coll. 1965 (306) après administration de LYNDIOL*, signalent quelques cas de jaunisse avec cholestase intra-hépatique et nécrose des cellules du parenchyme. HUTCHERSON et coll. 1966 (143) notent une élévation marquée du cholestérol ainsi que LARSSON-COHN et coll. 1967 (163) qui mettent également en évidence l'élévation des phosphatases et des transaminases. D'autre part, LARSSON-COHN 1967 (168) rapporte des chiffres élevés de la rétention de la BSP, mais ces chiffres sont moins importants que ceux de CAROLI et coll. 1968 (38), trouvés au cours d'épreuves prolongées à l'ENIDREL*. En 1965, MEARS (197) estimait que les augmentations de BSP et des sérum-transaminases après la prise de contraceptifs oraux pouvaient être une réponse physiologique puisque l'oestradiol et l'oestriol entraînent une augmentation de la BSP. Cependant, en 1968 (199) elle constate que les contraceptifs interfèrent avec l'excrétion de la BSP et la fonction excrétrice de la cellule hépatique, mais ces modifications sont souvent transitoires et disparaissent spontanément lorsque le traitement est interrompu.

Enfin, en 1969, MAUVAIS-JARVIS et coll. (193) signalent que chez 50 % des sujets, les oestrogènes paraissent provoquer une diminution de la BSP et très exceptionnellement une rétention de la bilirubine conjuguée. Mais, avec les doses utilisées aucun accident sévère n'a été

constaté et une régression rapide de tous les signes cliniques et biologiques de cholostase a toujours été observée après l'arrêt du traitement.

d) Hypophyse :

SAUNDERS et coll. 1958 (284), MUNSHI 1963 (210) et LAKSHMAN et coll. 1963 (160) rapportent qu'un traitement de 30 jours avec du noréthynodrel, 0,5 mg/kg/jour, ou de l'ENOVID* (SAUNDERS 1964) (286) ou même un traitement plus prolongé, comme a pu le constater DRILL 1959 (69), n'a pas d'effets sur le poids de la glande pituitaire des souris et des rattes.

Ces observations sont difficiles à concilier avec les découvertes de HOLMES et coll. 1962 (138) qui déclarent que même une plus petite dose d'une préparation purifiée de noréthynodrel (0,2 mg/kg/jour) est suffisante pour provoquer une augmentation de ce poids. Enfin, MEARS 1965 (197) constate que les informations sur la morphologie de la glande pituitaire humaine après administration de contraceptifs oraux, sont rares mais aucun cas de tumeur n'a été noté au cours de neuf années d'expérimentation clinique.

D'après DRILL et coll. 1957 (67), SAUNDERS et coll. 1958 (284), EPSTEIN et coll. 1958 (81), le noréthynodrel et la noréthindrone sont de puissants inhibiteurs des gonadotrophines pituitaires chez le rat. D'autres études comme celles de SAUNDERS 1964 (286) ont montré que l'ENOVID* est un puissant inhibiteur de l'accumulation de LH dans la pituitaire du rat ovariectomisé et TAYMOR 1964 (317) rapporte que l'excrétion de LH est diminuée et ne note aucun pic au milieu du cycle.

Une diminution ou une suppression de l'excrétion des gonadotrophines a été obtenue chez des patientes recevant des contraceptifs oraux par PINCUS 1957 (242), HELLER 1957 (131), KUPPERMAN et coll. 1957 (159), EPSTEIN et coll. 1958 (81), LUNENFELD et coll. 1963 (179), TAYMOR 1964 (317). Par contre, BROWN et coll. 1960 (30), MATSUMOTO et coll. 1960 (188), ROSEMBERG et coll. 1960 (271), BROWN et coll. 1962 (31) rapportent que la production de gonadotrophines n'est pas affectée par les traitements cycliques.

LORAINE et coll. 1963 (173) concluent, ainsi que LORAINE et coll. 1965 (175), que l'activité des gonadotrophines pituitaires humaines n'est pas abolie même à la fin d'un traitement de longue durée (9 à 44 mois)

avec des composés progestatifs. En 1964, PEETERS (238) remarque que le fonctionnement normal du couple hypophyso-ovarien se rétablit très rapidement après l'arrêt d'un traitement prolongé à l'ANOVLAR*

e) Ovaires :

Comme on pouvait s'y attendre du fait de l'inhibition des gonadotrophines pituitaires, un traitement prolongé avec le noréthynodrel ou les oestrogènes réduit le poids des ovaires chez les rattes et les souris. C'est ce qu'ont démontré, en ce qui concerne les oestrogènes, WATNICK et coll. 1964 (339), FUJII et coll. 1965 (92), ISHIDA 1965 (144) et PLAZONNET 1968 (252) et en ce qui concerne le noréthynodrel, SAUNDERS et coll. 1958 (284), HOLMES et coll. 1962 (138) et MUNSHI 1963 (210), les variations de poids des ovaires de rattes étant approximativement les mêmes dans les observations des deux premiers auteurs. De plus, ces ovaires montrent aussi des degrés différents de l'inhibition folliculaire et une diminution ou une absence de corps jaune indiquant l'arrêt de l'ovulation. A noter cependant que les changements de taille ne sont pas en relation directe avec les changements histologiques.

L'inspection des ovaires humains par laparotomie (MEARS 1965) (197) révèle même après un seul cycle de traitement, une atrophie de ces ovaires qui ressemblent alors à ceux de femmes post-ménopausées. Cependant, ils reprennent leur apparence normale dès que le traitement est stoppé, même si ce dernier a été prolongé pendant six ou sept ans.

Dès 1956, ROCK et coll. (268) confirmés par GARCIA et coll. 1957 (95) et 1958 (96), MATSUMOTO et coll. 1960 (188) ont indiqué que l'ovulation n'apparaît pas chez des femmes traitées aux contraceptifs oraux.

La diminution de l'excrétion du prégnandiол dans l'urine, observée par ROCK et coll. 1956 (268), GOLDZIEHER et coll. 1962 (109), RICE-WRAY et coll. 1963 (261), LORAIN et coll. 1963 (173), SHEARMAN 1963 (292), MEARS 1965 (197) démontre l'absence de corps jaune actif. Ceci est confirmé par les études de BROWN et coll. 1960 (30), SHEARMAN 1963 (291) et (292) montrant que l'augmentation à mi-cycle de l'excrétion d'oestrogène, apparaissant habituellement avec l'ovulation, est absente lorsque les contraceptifs oraux sont administrés.

L'étude histologique entreprise par LUMBROSO et coll. 1965 (176) sur les ovaires de femmes traitées par les progestatifs, montre la poursuite du processus d'atrésie folliculaire.

ROCK 1961 (269) étudia des biopsies ovariennes chez des femmes utilisant des comprimés oestro-progestatifs. Il ne trouva aucun signe de dommage ovarien et les numérations de follicules ne montrèrent pas de différences avec les chiffres attendus d'après l'âge des patientes.

OSTERGAARD 1964 (231), LAUWERYNS et coll. 1964 (166) remarquent la présence d'un stroma normal et de follicules normaux et l'absence de corps jaunes frais ou involués récemment. C'est également ce que notèrent au cours de leurs études sur le noréthynodrel RYAN et coll. 1964 (277) mais ils signalent en plus, la présence chez leurs patientes sous traitement depuis plus d'un an, de follicules atrésiques et kystiques inactifs, ainsi qu'une condensation focale et corticale du stroma dans approximativement la moitié des cas.

Les études entreprises sur le réticulum et le collagène indiquent qu'il y a un changement régressif de la condensation fibrillaire et non une prolifération active. Cependant, le pouvoir régénératif excellent du cortex ovarien et l'état transitoire de ces changements sont rassurants. En effet, comme ont pu le constater SAUNDERS 1958 (282) et MUNSHI 1963 (210) chez le rat et la souris, après arrêt du traitement la fonction ovarienne revient, les ovaires montrent une image histologique normale et la gestation apparaît après l'accouplement.

De même SWYER 1964 (313) et CHEVALLIER 1967 (45) notent chez la femme l'absence apparente d'altération de la fonction ovarienne après cessation du traitement même prolongé pendant de longs mois. Les ovulations réapparaissent mais avec un retard au cours du premier cycle comme le précisent RYAN et coll. 1964 (277) et VOKAER 1965 (338), retard pouvant aller de dix jours à deux semaines au-delà de l'habituel 14^e jour et selon PEETERS 1964 (238) la fonction endocrinologique de l'ovaire réapparaît souvent bien plus harmonieuse qu'avant.

Enfin, il est à remarquer que, à l'encontre des constatations observées par les différents auteurs cités, sur l'inhibition de l'ovulation, il a été montré (MEARS 1965) (197) à l'aide de prélèvements réalisés sur des patientes sous traitement de longue durée, que l'ovaire bien que dramatiquement affecté par cette médication peut "s'échapper" pendant le traitement continu et entraîner ainsi une ovulation occasionnelle.

11°) La libido :

PINCUS et coll. 1956 (241) observent que des animaux absorbant du noréthynodrel au-delà d'une période de 70 jours et à raison de deux milligrammes tous les deux jours refusent d'accepter le mâle aussi longtemps que le traitement est continué. SAUNDERS 1958 (282) observe que des injections à des ratte de 0,2 mg/kg/jour ou plus, au-delà d'une période de 35 jours, provoquent une stérilité. Puisque ce sont uniquement des accouplements fertiles qui surviennent pendant et après le cours du traitement, on ne sait pas si cette stérilité est due aussi au fait que les femelles refusent le mâle.

Chez les femmes, RICE-WRAY et coll. 1962 (260) et BOCKNER 1963 (22) sont d'accord pour affirmer que dans 60 à 70 % des cas la libido reste inchangée. RICE-WRAY trouve une augmentation de la fréquence des relations sexuelles dans 28 % des cas et une diminution dans environ 1,4 %, alors que les chiffres obtenus par BOCKNER sont respectivement 8 et 15 %, que HUTCHERSON et coll. 1966 (143) signalent seulement une diminution de 0,8 % et que KIRCHHOFF 1968 (152) note des modifications en plus ou en moins à peu près équivalentes. Seul BOCKNER 1963 (22) rapporte une perte de la libido dans 4 % des cas.

12°) Fertilité après le traitement :

Même l'emploi prolongé de la méthode d'inhibition de l'ovulation n'est pas susceptible de provoquer, selon PEETERS 1964 (238) une stérilité définitive. LORAINE et coll. 1965 (175), DRILL 1965 (71), RAVINA 1966 (259), THOYER-ROZAT et coll. 1968 (320), MEARS 1968 (199) notent que la fertilité revient rapidement quand l'usage cyclique des contraceptifs oraux est stoppé. Cette fertilité paraît même augmentée, ultérieurement, si l'on en juge par le taux de 230 années-femme* recueilli par SWYER 1964 (313) comparé avec le chiffre de 63 avant l'utilisation des comprimés ; et le taux de grossesse recueilli par l'O.M.S. 1966 (230), de l'ordre de 40 à 65 % au cours du premier cycle menstruel, après cessation du traitement (alors qu'il est de 35 % chez les femmes qui pratiquaient un autre mode de contraception), de l'ordre de 50 à 80 % au cours des deux premiers cycles et de 90 % au cours des six premiers mois.

Donc, que le traitement soit continu ou cyclique, dès son arrêt, on assiste à une récupération de la fonction ovarienne et il se produirait même d'après TYLER et coll. 1959 (324), COOK et coll. 1961 (49),

*Cent femmes traitées pendant 12 mois = 1200 mois d'exposition à la grossesse et 100 années-femme.

GOLDZIEHER et coll. 1962 (110), PEETERS 1964 (238), COHEN 1965 (48), MULLER 1965 (209), LUMBROSO et coll. 1965 (176), un phénomène de "rebond" : la fonction ovarienne serait exaltée et du même coup, les chances de fécondité seraient augmentées. Certaines femmes à ovulations intermittentes auraient ainsi pendant quelques mois des ovulations régulières, mais, dire que l'arrêt des contraceptifs pourrait augmenter la fécondité de femmes précédemment stériles serait, d'après RAVINA 1966 (259), avancer une hypothèse que les faits ne justifient pas et les auteurs d'un rapport de l'O.M.S. 1966 (230) pensent qu'il s'agit peut-être d'un phénomène en rapport avec une fécondité initiale supérieure à la normale.

II - EMBRYOPATHIE, FOETOPATHIES

1°) Contrôle de la fertilité :

Des grossesses pouvant survenir à la suite d'interruptions accidentelles du traitement, il était nécessaire d'examiner les retentissements possibles des anovulatoires sur les différentes phases de la gestation. Ainsi, lorsque les anovulatoires sont administrés après la fécondation, CAILLARD et coll. 1968 (37) spécifient qu'un déséquilibre hormonal entraîne l'impossibilité d'une ovoimplantation correcte : l'administration d'oestrogènes à des rats ou des lapins entraîne des troubles de la nidation ; le noréthynodrel, mais à doses fortes seulement, est capable d'entraîner des résorptions foetales et l'éthinyl-oestradiol et le lynestrénol administrés après la nidation diminuent également le nombre de foetus survivants. Il est à noter aussi que la phase critique, contrairement aux autres médicaments, se situe pendant la période foetale, au moment où s'effectue la différenciation de l'appareil génital externe.

Or, les grossesses survenant lors de l'oubli de la prise d'un comprimé paraissent exceptionnelles. Par contre, lors des essais de RICE-WRAY et coll. 1962 (260) plusieurs grossesses surviennent chez des patientes ayant oublié de prendre leurs comprimés, le 8e et le 9e jour du cycle, le 10e et le 11e jour et après le 19e jour. De la même façon, l'oubli de deux comprimés au cours du même cycle a été suivi comme le constatent GOLDZIEHER et coll. 1962 (109) de neuf grossesses sur 199 patientes. Ces mêmes auteurs ont pu montrer que le mode de terminaison de ces grossesses suivant l'arrêt du traitement entraînait un nombre d'accouchements par voies haute ou basse,

de grossesses extra-utérines et d'avortements tout à fait comparable à la moyenne habituelle. Chez les 37 patientes de RICE-WRAY et coll. 1962 (260) qui arrêtent leur traitement (allant de 11 cycles à 24 cycles), les grossesses surviennent un mois à un mois et demi après cet arrêt. Treize d'entre elles furent normales et trois avortements spontanés sont observés ; six autres sont provoqués et quinze grossesses se poursuivent normalement.

2°) Malformations foetales :

En ce qui concerne les influences sur l'embryon, elles ne peuvent évidemment être discutées que dans les cas où une défaillance de la continuité médicamenteuse expose un ovule fécondé intempestivement à l'activité du progestatif lors de la reprise du traitement. On retrouverait alors les conditions qui avaient permis à WILKINS 1960 (341) de décrire les cas classiques de pseudo-hermaphrodisme imputables aux dérivés de la 19 Nortestostérone.

Ainsi GRASSET et coll. 1962 (117), DRILL 1965 (71) et 1966 (72), ne dissimulent pas que le noréthynodrel, la noréthindrone et l'acétate de noréthindrone, employés à doses fortes ont une action légèrement masculinisante sur le fœtus femelle du rat, cette action étant beaucoup moins puissante que celle de la méthyl-oestronolone.

Des résultats différents mais tout aussi pessimistes ont été rapportés chez le chien et le singe par CAILLARD et coll. 1968 (37). La médroxyprogestérone administrée à des rattes ou des lapines par COHEN 1965 (48) entraîne une virilisation des fœtus femelles. Cependant, CHEVALLIER 1967 (45) remarque que chez la femme ces effets sont bien moins marqués et de fait, l'acétate de médroxyprogestérone, administré quotidiennement à 210 femmes enceintes à la dose de 400 mg par jour n'a donné aucune masculinisation sur 108 naissances de sujets féminins, et administré à la fin de la grossesse par BRENNER et coll. 1962 (29), il s'est montré sans effet sur la durée de la grossesse, l'évolution du travail et l'état du fœtus à la naissance.

A l'inverse, la noréthindrone administrée à 380 femmes durant leur grossesse par JACOBSON 1962 (146) entraîne un effet de masculinisation du fœtus femelle dans 18 % des cas ; LUMBROSO et coll. précisant en 1965 (176) que le risque de virilisation du fœtus est plus grand lorsqu'elle est administrée entre la 7e et la 8e semaine de la gestation. Cependant RICE-WRAY et coll. 1962 (260) n'observent (avec le même produit) aucune

hypertrophie du clitoris ou aucun autre changement de l'appareil génital externe chez les nourrissons de ses patientes. LUMBROSO et coll. 1965 (176) constatent qu'il n'y a jamais eu de malformations foetales avec le noréthynodrel et le lynestrénol mais RICE-WRAY et coll. 1965 (264) notent sept foetus anormaux : deux prématurés, un bec de lièvre, une ectopie testiculaire, une syndactylie de la main gauche, un mort *in utero* et une mort au cours du travail ; ceci sur 208 naissances. Cependant, cette fréquence est comparable à la moyenne normale.

En 1965 TUCHMANN-DUPLESSIS (323) répertoriait 4 à 500 masculinisations des organes génitaux externes avec hypertrophie clitoridienne et soudure des petites lèvres, chez des foetus nés de femmes ayant absorbé de façon indisciplinée des pilules anticonceptionnelles. Cependant, le nombre de femmes traitées est si grand que le risque paraît limité. De plus, les progestatifs récemment synthétisés sont dépourvus d'action androgène et paraissent ne pas avoir l'inconvénient signalé pour les progestatifs à activité androgène primitivement préconisés. Aussi, comme le constate MULLER 1965 (209) rien ne permet d'affirmer que les norstéroïdes peuvent être à l'origine de mutations dont les effets risquent de n'apparaître que lorsque les enfants, conçus après ce genre de traitement, auront atteint l'âge adulte et auront à leur tour des enfants susceptibles de présenter une tare imputable aux norstéroïdes ; mais, pour l'instant, il est bien entendu impossible de conclure sur ce point.

En ce qui concerne l'emploi des anticonceptionnels oraux à formule mixte, seules les associations comportant un progestatif de synthèse à action virilisante (prégnéninolone, médroxyprogestérone) manifesteraient un risque de virilisation du foetus femelle, risque qui serait diminué aujourd'hui grâce à la réduction récente des posologies (ROZENBAUM et coll. 1969) (272).

GRUMBACH et coll. 1960 (122) signalent un cas de masculinisation avec hypertrophie clitoridienne et fusion labio-scrotale après traitement à l'ENOVID* pendant les douze premières semaines, mais ce cas, également noté par WILKINS 1960 (341) ne serait pas une conséquence du traitement. GOLDFARB et coll. 1961 (107) ne rapportent aucune masculinisation des 54 enfants dont les mères étaient traitées avec de l'ENOVID* pendant les 36 semaines de la grossesse et "dans la série de WESELEY citée en 1963 par LEHFELDT" (168) l'examen des nourrissons d'une centaine de femmes traitées avec 10 mg par jour de l'association noréthynodrel - mestranol,

entre la 14 et la 36e semaine n'a révélé ni malformation, ni ambiguïté sexuelle. Le sentiment unanime des auteurs, ainsi que celui de SWYER 1964 (313), MEARS 1965 (197), RAVINA 1966 (259), O.M.S. 1966 (230), MEARS 1968 (199), KIRCHHOFF 1968 (152) et ROZENBAUM et coll. 1969 (272) est que les enfants, dans les deux sexes, naissent normaux, bien que les progestagènes soient, d'une façon bénigne, androgéniques sur des animaux de laboratoire, mais il est douteux que les contraceptifs oraux puissent avoir aux doses utilisées une action virilisante sur le fœtus s'ils sont absorbés par erreur au début d'une grossesse.

III - CONSEQUENCES GENETIQUES

Depuis quelques années, de nombreux auteurs se sont attachés à l'étude chromosomique des produits d'avortements spontanés. BOUE et coll. 1967 (24) publient 132 cas ayant permis une analyse chromosomique, 50 d'entre eux avaient eu une anomalie, soit 37 %. En 1968, sur 227 cas des mêmes auteurs (BOUE) (25), 76 avaient une anomalie, soit 38 %. Les études de CARR 1967 (39), sur 227 cas, en notaient 50 soit 22 %. Il ne semble pas que dans ces études, les mères aient fait usage de contraceptifs oraux mais CARR 1967 (40) trouve une anomalie chromosomique dans six des huit produits d'avortement de femmes qui avaient développé une grossesse après avoir pris des contraceptifs par voie orale. La drogue avait été prise pendant 11 à 30 mois et son administration arrêtée depuis deux à quatre mois. Seulement deux types d'anomalie, triploïdie et monosomie X, furent retrouvés. La fréquence des triploïdies dans ce petit groupe apparaissait prédominante puisque la fréquence habituelle était de 23 sur 521 cas dans une série parallèle. L'auteur présume alors qu'un déséquilibre hormonal peut, par exemple, retarder le transport de l'ovule et conduire à une fertilisation retardée. Il y aurait donc une possibilité de fécondation d'un ovule vieilli pouvant, selon ROZENBAUM et coll. 1969 (272) produire des triploïdies, anomalies chromosomiques léthales entraînant un avortement spontané précoce. LAPLANE et coll. 1968 (161), dans un article consacré au risque foetal des traitements endocriniens, rapportent les différentes publications concernant le risque de malformations après la prise de contraceptifs. BEACONSFIELD et coll. 1968 (17) font une étude expérimentale sur 10 rats femelles dont la fertilité était prouvée, en leur administrant 0,25 mg de noréthynodrel par jour. Ils examinent les ovules après arrêt de la drogue. Ils constatent, par rapport aux témoins, qu'un pourcentage inférieur de cellules entrent en méiose avec parfois arrêt de la méiose au stade diploïde. De plus dans les groupes non sacrifiés, on note une diminution du nombre de la portée. Cependant, BISHOP

et coll. 1968 (21) critiquant cette étude, font remarquer que la drogue utilisée par BEACONSFIELD et coll. n'est jamais donnée de façon continue chez la femme. D'autre part, la dose qui a été utilisée chez le rat est beaucoup plus élevée que celle utilisée chez la femme. Par ailleurs, MATSUNAGA 1966 (189) dans une étude d'ensemble, étudie les conséquences génétiques et démographiques d'une déjà longue expérience du planning familial au Japon. Cette étude n'affecte que les malformations grossières et sur le plan démographique, elle aboutit à une diminution du nombre de malformations quels que soient les modes de contraceptions utilisés, et ils ont sans doute été multiples depuis 25 ans, en particulier, l'avortement provoqué pour maladies héréditaires.

Si la jeune femme désire retarder l'âge de ses grossesses, il est encore difficile de savoir actuellement quelles en seront les conséquences exactes sur la fertilité et sur d'éventuels oeufs malformatifs après une longue contraception, alors que son âge aura augmenté. Par contre, en diminuant les grossesses non désirées, des derniers nés de longue fratrie, la contraception peut diminuer le nombre des trisomiques chez des mères âgées.

Il est indispensable que des études précises soient faites rapidement sur la descendance des femmes utilisant des contraceptifs oraux ainsi qu'une étude chromosomique en cas d'avortement, c'est là la seule façon de répondre aux questions angoissantes que pose la généralisation d'une méthode permise par la "loi".

IV - RISQUES DE CANCERISATION

Les craintes d'un carcinogénèse possible sont centrées d'après SWYER 1964 (313) sur la teneur en oestrogène des comprimés, bien qu'aucune autorité scientifique n'ait fourni la preuve que des oestrogènes administrés à une patiente aient été réellement responsables d'un cas de cancer humain (WALLACH et coll. 1959) (337), (MAUVAIS-JARVIS et coll. 1969) (193).

Expérimentalement les effets tumorigènes des oestrogènes, reconnus aussi par KISTNER 1959 (154), GUSBERG 1963 (126), RAVINA 1966 (259), O.M.S. 1966 (230), HERVET et coll. 1967 (134) et MAUVAIS-JARVIS et coll. 1969 (193), se voient seulement avec des traitements continus et disparaissent si le traitement est interrompu. La progestérone et les gestagènes ne seraient, eux, qu'adjuvants de la carcinogénèse et pour certains, HERTZ et coll. 1951 (132), KISTNER 1959 (154), STOLL 1961 (305), MOREL 1965 (206),

RAVINA 1966 (259) et O.M.S. 1966 (230), ils auraient au contraire un effet anticarcinogénétique, sur l'endomètre en particulier, et bien qu'il y ait une possibilité que des agents anticarcinogénétiques puissent être eux-mêmes carcinogénétiques, la validité de cette hypothèse, au moins en ce qui concerne les gestagènes, est absolument inconnue.

Comme les comprimés suppriment la sécrétion d'oestrogènes par l'ovaire, il est probable que l'oestrogène présent dans ces comprimés compense l'apport endogène diminué et les femmes qui les utilisent sont, en fait, dans un état à dominante progestative et non à dominante oestrogène. Il n'est pas absolument fantaisiste de suggérer que l'usage de ces comprimés pourrait conduire à une diminution de fréquence du cancer génital.

Des études de toxicité chronique entreprises sur les rats par DRILL 1959 (69) avec l'ENOVID*, KING et coll. 1962 (151) avec l'ORTHO-NOVUM* et DRILL 1963 (70) avec l'OVULEN*, n'ont mis en évidence aucun pouvoir anticarcinogénétique pour ces produits.

Les frottis de PAPANICOLAOU réalisés pendant le cours du traitement anticonceptionnel n'ont démontré aucune augmentation de l'incidence des frottis anormaux. Les expériences de PINCUS 1961 (246) et TYLER 1964 (327) prouvent que le pourcentage de frottis vaginaux normaux est plus grand chez les femmes sous contraceptifs oraux, la différence de 5 % étant juste significative statistiquement.

Bien que COOK et coll. 1961 (49), au cours d'une étude de trois ans sur l'ENOVID* conduite à Humacao (Porto-Rico), observent deux patientes ayant un cancer cervical, (carcinome *in situ* également rapporté par PINCUS 1961 et carcinome épidermique) sur 518 années-femme, les études de PINCUS et coll. 1959 (245), PINCUS 1961 (246), RICE-WRAY et coll. 1962 (260) et 1963 (261) et GOLDZIEHER et coll. 1962 (109) avec l'ENOVID* et l'ORTHO-NOVUM* ne révèlent aucun changement précancéreux dans les biopsies du col ou de l'endomètre et aucun cas de cancer du sein après usage de contraceptifs oraux. De même LUMBROSO et coll. 1965 (176) et MOREL 1965 (206) remarquent qu'avec un recul d'une dizaine d'années, il n'a pas été constaté d'augmentation de la fréquence du cancer utérin, ni de tumeurs bénignes ou malignes des ovaires ou de l'hypophyse et MULLER 1965 (209) constate qu'aucun fait précis ne permet d'affirmer que les norstéroïdes soient susceptibles de favoriser l'éclosion d'une tumeur ou d'une hémopathie malignes. Plus tard, CHEVALLIER 1967 (45), HERVET et coll. 1967 (134), KIRCHHOFF 1968 (152) et MAUVAIS-JARVIS et coll. 1969 (193) semblent confirmer ces dires en

ne décelant aucun changement de valeur en faveur d'une action cancérigène des progestatifs chez des femmes saines soumises pendant des années à la contraception orale.

LEWIN et coll. 1959 (169) observent même des régressions de cancer du sein chez cinq patientes sur 22, à la suite d'un traitement à la noréthindrone. HILLER 1960 (135) avec le même produit note un effet identique chez une femme ayant un cancer de l'ovaire et chez une ou deux femmes ayant un cancer du sein. BAKER et coll. 1960 (10) signalent une rémission du cancer du sein chez 20 % de ses patientes traitées au noréthynodrel et BUCK et coll. 1963 (36) remarquent une régression d'une "leucoplakia" cervicale sans dysplasie après traitement à l'ENOVID*. WILSON en 1962 (342) a émis l'hypothèse d'un rôle préventif des progestatifs mais sans preuve formelle et CURTIS 1964 (54) semble la confirmer en signalant lui aussi des rémissions de cancer du sein ainsi que FRICK et coll. 1965 (87) qui ont publié des cas de rémissions de cancers endométriaux sous l'influence de la progestérone et des progestatifs, MOREL 1965 (206) dont les observations recueillies à Porto-Rico où le cancer du col a une fréquence élevée montrent que les cas de tumeurs sont considérablement plus rares ; et HERVET et coll. 1967 (134) dont les biopsies de femmes traitées ont montré une diminution des endomètres pathologiques (dysplasies, hyperplasies, endométrites) et enfin CERBONNET 1968 (42) qui, après traitement à la noréthindrone, observe deux fois sur trois une action efficace sur le cancer de l'endomètre, une fois sur trois une nette régression de l'infiltration pelvienne ou de la dissémination abdominale lors d'un cancer de l'ovaire et une action favorable dans le cancer du sein, une fois sur deux si les lésions sont localisées dans les parties molles, ou une fois sur quatre s'il s'agit de métastases osseuses ou pleuro-pulmonaires.

On peut donc conclure (RAVINA 1966) (258) et (O.M.S. 1966) (230) qu'il n'existe aucune preuve actuelle du rôle cancérigène des contraceptifs oraux mais comme le processus de cancérisation peut comprendre une longue période de latence, on ne saurait exclure l'éventualité d'effets à plus long terme puisque l'utilisation des contraceptifs ne remonte pas à plus de 15 ans. On peut s'interroger sur leur éventuelle action préventive, bien que cette dernière soit reconnue par PINCUS dans CAILLARD et coll. 1968 (37) et ROZENBAUM et coll. 1969 (272) puisqu'ils estiment que les oestro-progestatifs réaliseraient - par rapport à une population témoin - une véritable prophylaxie des cancers génitaux ou mammaires, ceci dans une appréciation statistique à court terme et reconnue aussi par SONKIN et coll.

I966 (300), FROMENT I967 (88), DARGENT et coll. I968 (56), KIRCHHOFF I968 (I52), GUEGUEN I968 (I25), MAUVAIS-JARVIS et coll. I969 (I93) puisque KIRCHHOFF et GUEGUEN précisent que les oestrogènes, les progestatifs, et leur association sont parfois utilisés aujourd'hui dans le traitement de certains cancers, justement en raison de leurs propriétés antimitotiques.

- - -

RECHERCHES EXPERIMENTALES

CHAPITRE I

GENERALITES

I - LES DIFFERENTES METHODES D'ADMINISTRATION :

Notre expérimentation a consisté en l'administration, chez des rat-tes pubères, d'un oestrogène et d'un progestatif utilisés seuls et en asso-ciation dans le but de savoir s'ils présentent une action sur l'activité enzymatique de la leucine aminopeptidase .

Dans l'espèce humaine, quatre méthodes anticonceptionnelles sont actuellement vulgarisées, trois d'entre elles agissant par inhibition ovarien-ne et la quatrième par modification de la glaire cervicale .

1°) Première méthode :

C'est la plus ancienne et aujourd'hui encore la plus utilisée. Appelée aussi méthode "combinée", elle consiste en l'administration quotidien-ne du 5e au 25e jour du cycle, de l'association d'un progestatif et d'un oestrogène, l'addition de ce dernier renforçant l'action du progestatif et chacun de ces deux produits pouvant à lui seul déterminer l'inhibition ovarienne.

Cette méthode est de valeur pratiquement absolue, les statisti-ques faisant état de moins de 0,2 grossesse pour cent années de vie sexuelle "exposée" (BAULIEU 1968)(16) .

2°) Deuxième méthode :

Utilisée peu de temps après la précédente, cette méthode est rarement employée aujourd'hui. L'inhibition est réalisée en administrant chaque jour, du 5e au 25e jour du cycle, un progestatif seul .

3°) Troisième méthode :

Dite encore méthode "séquentielle", elle est obtenue en admi-nistrant chaque jour un oestrogène du 5e au 25e jour du cycle et en lui asso-ciant du 16e au 25e jour un progestatif. C'est la méthode la plus récente.

Elle fut proposée pour la première fois par GOLDZIEHER et coll. en 1963 (II2)

Elle est plus "physiologique" par sa ressemblance avec le cycle normal - elle respecte le cycle ovarien - et elle semble, peut-être pour cette raison, mieux tolérée .

4°) Quatrième méthode :

Décrite par RUDEL et coll. 1965 (273) et 1966 (274) et par MARTINEZ-MANAUTOU et coll. 1966 (I85) et 1967 (I86), cette méthode de "supplémentation lutéale" consiste à administrer quotidiennement, durant tout le cycle, une "mini-dose" de progestagène. Le traitement doit impérativement commencer le premier jour du cycle et un temps de latence de huit jours est nécessaire avant l'observation de l'inhibition .

Cependant, si elle ne provoque aucun trouble de la circulation sanguine ou aucun accident cardio-vasculaire (205), la sécurité de cette méthode est moins grande qu'avec les méthodes classiques. BAULIEU 1968 (I6) relève 3 grossesses pour cent années de vie sexuelle "exposée" dans la plupart des statistiques actuelles .

5°) Autres méthodes :

D'autres méthodes actuellement en cours d'expérimentation ont pour but la découverte d'une "pilule" qui ne serait prise qu'une fois par semaine, voire une fois par mois .

C'est ainsi qu'à Prague, les chercheurs de l'Université ont mis au point un contraceptif dont l'effet rétroactif serait valable pendant sept jours. Les tests en laboratoire effectués sur des animaux ont montré l'efficacité du contraceptif administré une semaine après que les femelles aient été fécondées. Cette substance nouvelle paraît bien agir comme contraceptif et non comme abortif puisque les femelles chez lesquelles la contraception a eu lieu portaient des embryons tout à fait normaux (204) .

Par contre, nous ne parlerons pas des moyens de susciter chez les femmes la formation d'anticorps antispermatozoïdes, pas plus que des drogues préconisées chez l'homme .

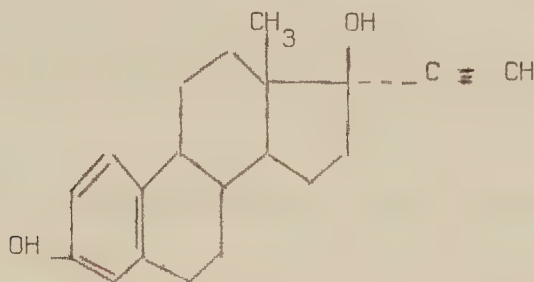
II - SUBSTANCES PHARMACOLOGIQUES EXPERIMENTEES :

1°) Les oestrogènes :

Actuellement deux oestrogènes seulement sont utilisés dans les associations anticonceptionnelles, l'éthinyl-oestradiol, le plus proche de l'hormone folliculaire, dont le rôle a été souligné par MAQUED et coll. 1966 (I83) et le mestranol ou 3 méthyl-éther 17 α éthinyl-oestradiol, auquel MEARS

I963 (I96) , PINCUS I965 (249), NETTER et coll. I966 (22I) et (222) semblent accorder leur préférence .

L'oestrogène que nous avons utilisé au cours de nos expériences est l'éthinyl-oestradiol ou 17 α éthinyl-1,3,5 estratriène-3,17- β -diol.



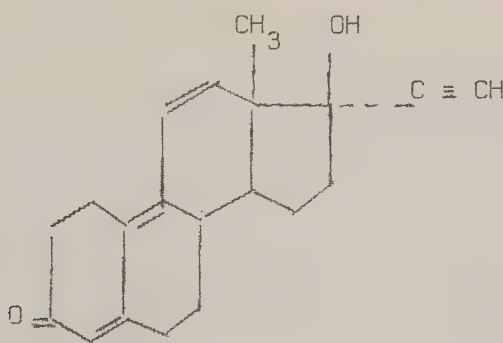
Ce produit actif par voie orale, est insoluble dans l'eau, aussi nous avons été conduit à l'administrer sous forme de suspension .

Nous ne nous étendrons pas sur son étude pharmacodynamique, ni sur son mode d'action, nous permettant de renvoyer le lecteur à l'ouvrage de PLAZONNET I968 (252) .

2°) Les progestatifs :

Bien que leur gamme soit très étendue, VELLUZ en I967 (329) nous donne une idée générale de leur apparition chronologique, citant les particularités pharmacologiques et chimiques de chacun, de la classique éthinyl-testostérone ou prégnéninolone aux diverses substances obtenues par synthèse totale, sans omettre les dérivés, non plus de la 19 nor-testostérone mais de la progestérone elle-même .

La norgestriénone ou 17 α éthinyl-triéénolone ou NGT ou R 2010 ou 3-céto-17- β -hydroxy 17- α -éthinyl Δ 4,9,11 estratriène, située dans le groupe des éthinyl nor-stéroïdes, revêt pour nous une importance particulière, puisque c'est le progestatif que nous avons choisi pour conduire notre expérimentation .



Synthétisé récemment, ce produit de poids moléculaire 294,4, original parce que triénique dans les noyaux A, B, C, se présente sous la forme d'une poudre jaune dont le point de fusion varie de 168 à 173°C. Il a été préparé par synthèse totale à partir d'un simple acide gras (NOMINE et coll. 1965)(225), (VELLUZ 1967)(329) et expérimenté en France de façon favorable.

De ses propriétés physiques, nous ne retiendrons que sa solubilité dans l'éthanol, l'acétone, le chloroforme et son insolubilité dans l'éther et surtout dans l'eau, ce qui nous a incité à l'administrer sous forme de suspension .

Son étude pharmacodynamique a été entreprise par NETTER et coll. 1967 (222) .

a) Effet progestatif :

La norgestriénone exerce par voie orale une activité progestomimétique supérieure à celle du noréthynodrel et de la noréthindrone, 1 mg de norgestriénone correspondant approximativement à 25 mg de progestérone.

Sur le test de CLAUBERG, au cours duquel on mesure le degré de prolifération de la muqueuse utérine de la lapine préalablement préparée par des oestrogènes puis traitée par le progestatif (CLAUBERG 1930) (47), cette activité se manifeste à la dose de 250 µg par lapine et par jour; elle est nette à la dose de 1 mg*.

La norgestriénone n'assure pas un maintien total de la gestation de la lapine gestante castrée mais ses effets sont certains aux doses de 2,5 et 5 mg par lapine et par jour, alors que la noréthindrone est inactive à des doses allant de 1 à 40 mg*.

Chez la femme, cette activité est mise en évidence par une modification de l'épithélium vaginal stimulé par les oestrogènes, par une augmentation de la température cutanée, par une modification de la glaire cervicale et par l'apparition de glycogène puis de mucus dans l'endomètre préparé par les oestrogènes .

b) Effet oestrogénique :

Apprécié par la kératinisation du vagin, cet effet, comme pour la norgestriénone est très faible. L'activité utéro-trophique, très faible également, s'évalue par rapport à celle de l'éthinyl-oestradiol de la façon suivante :

- 1/900* dans le test du poids de l'utérus de LAUSON, *per os* chez la ratte impubère .

* communications personnelles du Docteur JEQUIER .

- 1/3000* dans le test du poids de l'utérus de RUBIN, en sous-cutané chez la souris impubère .
- 1/1000* dans le test d'ALLEN et DOISY (déclenchement de l'oestrus chez les femelles ovariectomisées) en sous cutané chez la ratte adulte castrée .

c) Effet antioestrogénique :

Au-dessus du milligramme, la norgestriénone semble avoir une action antioestrogénique car chez les femmes, elle fait régresser l'épithélium vaginal, elle provoque l'apparition de fibres collagènes dans le stroma endométrial, elle empêche le développement de l'endomètre quand elle est associée aux oestrogènes .

d) Effet androgénique :

Aucune action androgène n'a été décelée après administration de 10 mg par jour de norgestriénone .

Chez le rat mâle impubère castré, les effets androgènes et myotrophiques sont faibles après injections sous-cutanées de 20 mg de norgestriénone par rat*, la dose totale étant répartie en 9 injections sur dix jours selon une technique voisine de celle d' HERSHBERGER .

e) Effet antigonadotrope :

La norgestriénone exerce une activité inhibitrice hypophysaire importante. Un peu inférieure par voie orale à celle de la noréthindrone et du noréthynodrel, comme en témoigne le test de parabiose effectué entre un rat femelle castré et un rat mâle entier, l'animal castré étant traité pendant dix jours avec 25 ou 50 µg de norgestriénone, elle est sensiblement égale, par voie sous-cutanée à celle du noréthynodrel lorsque les deux stéroïdes sont comparés selon le test de SAUNDERS et DRILL* (administration à des rattes impubères d'un broyat d'hypophyses de rattes castrées, traitées à la dose de 2 mg par kg et par jour pendant un mois) .

f) Activité antiovulatoire :

Différents tests ont été envisagés pour examiner cette activité :

- Test de VELARDO :

Après un traitement *per os* de sept jours, les rattes,

* communications personnelles du Docteur JEQUIER.

âgées de trois mois environ, sont réunies avec des mâles fertiles, séparées après le coït et sacrifiées huit jours après. Les effets du traitement sont évalués par le temps de cohabitation écoulé jusqu'à l'accouplement, le pourcentage de femelles non gestantes, le nombre moyen d'implantations par femelle gestante et surtout le taux de fertilité du groupe égal au rapport : nombre total d'implantations / nombre de femelles accouplées . On a pu ainsi déterminer une action contraceptive nette à la dose de 0,5 mg par ratte et par jour*. A cette dose, le taux de fertilité est nul ou réduit à 50 %. A cette même dose, le noréthynodrel est inactif et pour obtenir un effet comparable, il faut atteindre 2 mg par ratte et par jour et 3,5 mg par ratte et par jour pour la noréthindrone*.

- Test de PINCUS :

Il ne diffère du précédent que par la durée du traitement, les rattes ne recevant qu'une seule fois le progestatif, 24 heures avant la cohabitation avec des mâles fertiles. Le taux de fertilité de la ratte diminue proportionnellement aux doses administrées : 2,5 et 10 mg / ratte, ce qui n'a pas été le cas du noréthynodrel .

- Test de PINCUS sur la lapine :

Dix huit heures avant l'accouplement, les lapines (espèce animale chez laquelle l'ovulation se produit 10 heures après le coït) sont traitées par voie sous-cutanée. L'activité, appréciée le 10e jour par le nombre de femelles non gestantes, le nombre d'implantations et la détermination du taux de fertilité, est sensiblement la même avec 0,1 mg / lapine de norgestriénone que celle exercée par 0,2 mg / lapine de noréthynodrel*.

- Test de BENNETT et coll. :

Il consiste à dénombrer les corps jaunes apparus sur les ovaires de rattes âgées de deux mois, pesant 180 à 200 g et traitées quotidiennement pendant 15 jours. Du 5e au 8e jour du traitement, les rattes reçoivent une injection intrapéritonéale d'une solution de Bleu de Chicago et elles sont sacrifiées le 16e jour. Le colorant ne se fixant que sur les granules lipidiques des corps jaunes mûrs et non sur ceux des corps jaunes développés postérieurement à son injection, la présence ou l'absence de corps jaunes non colorés par le Bleu de Chicago montre si une ovulation a eu lieu ou non entre le 9e et le 15e jour. Le nombre moyen des corps jaunes non colorés de chacun des groupes traités est comparé à celui des témoins. A la dose de 50 µg / ratte / jour administrée *per os* , ce nombre est de 2,6 contre 9 chez les témoins, l'ovulation étant totalement inhibée chez 4 rattes sur 5*. Ce même test pratiqué en administrant *per os* une suspension aqueuse d'éthinyl-oestradiol

* communications personnelles du Docteur JEQUIER .

aux doses de 0,1 , 0,3 et 1 mg / kg / jour, fournit des nombres moyens d'ovulation égaux à 5 , 6 et 0 contre 14 chez les témoins, 60 %, 10 % et 0 % de-rattes traitées ovulant contre 80 % chez les témoins*.

3°) L'association éthinyl-oestradiol-norgestriénone :

Cette association est commercialisée en France sous le nom de PLANOR* et elle répond à la formule suivante :

- 17 α éthinyl-oestradiol.....0,05 mg
 - 17 α éthinyl-triénolone (norgestriénone).....2 mg
- par comprimé .

Son étude clinique a été réalisée par BONHOMME et coll. 1967 (23). Quant à l'expérimentation pharmacologique conduite par JEQUIER, elle a montré son action :

- progestomimétique sur la muqueuse utérine, mise en évidence par le test de CLAUBERG .
- progestative par le maintien de la gestation de la lapine ovariectomisée .
- inhibitrice de l'hypophyse .
- antiovulatoire .

Pour notre expérimentation, nous n'avons pas cru devoir utiliser, comme nous le verrons plus loin, les doses reconnues efficaces chez la femme car il nous a paru préférable de conserver les doses choisies pour l'étude des produits séparés, de sorte que notre rapport oestrogène / progestatif s'élève au 1/5 alors qu'il est de 1/40 dans le PLANOR*.

III - ANIMAUX ET TRAITEMENTS:

Notre expérimentation a été conduite sur des rattes pubères, normales, de souche CD, originellement Sprague Dawley (obtenues à l'état Germ-free en 1955 par des techniques de césarienne stérile), âgées de 56 à 60 jours et dont le poids est compris entre 140 et 170 g.

En ce qui concerne l'éthinyl-oestradiol, WATNICK et coll. 1964 (339) établirent que des doses comprises entre 0,5 mg et 0,05 mg par kg de poids corporel et par jour, administrées *per os* , étaient suffisantes pour prévenir la gestation. Nous avons donc, comme PLAZONNET 1968 (252) fait absorber ce produit à raison de 0,1 mg par jour, sous forme d'une suspension dans une pseudo-solution de carboxyméthylcellulose à 1 % dans de l'eau distillée, de telle sorte que 0,5 ml de cette suspension corresponde à 0,1 mg de principe actif.

* communications personnelles du Docteur JEQUIER .

Le traitement était réalisé au moyen d'une sonde, technique nous permettant d'être sûre de la quantité absorbée par les rattes.

Pour la norgestriénone, la dose quotidienne chez la ratte pour bloquer l'ovulation est de 0,5 mg par jour.

Notons au passage la différence d'activité qu'il existe entre ce produit et un autre progestatif, tel que le lynestrénol, pour lequel PLAZONNET 1968 (252) était obligée d'administrer 4 mg par ratte afin d'obtenir l'effet antiovulatoire .

La norgestriénone est administrée, toujours à l'aide d'une sonde, sous forme de suspension dans le même véhicule que l'éthinyl-oestradiol, de telle sorte que 0,5 ml de cette suspension corresponde à 0,5 mg de norgestriénone .

Quant à l'association, nous l'avons administrée par sonde, sous forme d'une suspension dans la pseudo-solution de carboxyméthylcellulose à 1 %. Chaque ratte "intubée" recevait 0,5 ml de la suspension renfermant 0,1 mg d'éthinyl-oestradiol et 0,5 mg de norgestriénone .

Différents auteurs ayant remarqué, au cours de leurs recherches sur le mode d'action, l'existence d'une synergie entre l'oestrogène et le progestatif, nous avons conservé les doses utilisées pour l'étude des produits isolés afin de vérifier si cette synergie entrainait en jeu dans les phénomènes enzymatiques .

Conduite du traitement:

Le cycle de la ratte ayant une durée de quatre à cinq jours (OVERBEEK et coll. 1962)(234), (WATNICK et coll. 1964)(339), nous avons sélectionné nos animaux par observation des frottis vaginaux pendant 10 à 15 jours et nous n'avons conservé que les rattes ayant un cycle régulier de quatre jours et un oestrus typique, ce qui équivaut à peu près aux 3/4 des animaux envisagés .

Les frottis vaginaux, effectués tous les matins à peu près à la même heure, sont colorés par la méthode de VIROT 1968 (331), (332), plus rapide que la méthode de PUNDEL et LICHTFUS (LICHTFUS et coll. 1957)(170), que nous avons utilisée au début de notre expérimentation .

Cette méthode de PUNDEL et LICHTFUS consistait tout d'abord à fixer les frottis encore humides en les laissant dans un mélange d'alcool-éther à parties égales pendant une demi-heure. Puis à les rincer à l'alcool à 50° et à l'eau distillée et à faire une première coloration en laissant les

lames une quinzaine de minutes dans une solution d'héματοxyline au sulfate de zinc préparée de la manière suivante :

On porte à ébullition pendant trois minutes 100 ml d'une solution aqueuse d'héματοxyline cristallisée à 1 % et 50 ml d'une solution aqueuse de sulfate d'aluminium à 5 %. On laisse refroidir, puis on ajoute 25 ml d'une solution de sulfate de zinc à 5 %, 25 ml d'une solution d'iodure de potassium à 4 %, 50 ml de glycérine et 8 ml d'acide acétique .

Ensuite on procédait à un nouveau rinçage des lames à l'aide d'une solution saturée de carbonate de lithium, puis avec de l'eau distillée et de l'alcool à 50° et on effectuait la deuxième coloration en plongeant les frottis pendant 15 minutes dans le réactif Stain S3 de SHORR qui renferme :

- Biebrich écarlate soluble dans l'eau0,5 g
- Orangé G.....0,25 g
- Vert rapide FCF.....0,075 g
- Acide phosphotungstique.....0,5 g
- Acide phosphomolybdique.....0,5 g
- Acide acétique cristallisable.....1 ml
- Alcool à 50°.....qsp 100 ml

On rinçait alors à l'alcool à 50° puis à l'eau distillée . On laissait sécher et on effectuait la lecture au microscope .

Avec la méthode de VIROT, le premier sans doute à avoir mis au point ces techniques de colorations différentielles, fixées sur le champ, par encres à stylo, qui permettent à la fois la lecture extemporanée et le montage en vue d'examen ultérieurs, nous procédons de la façon suivante :

1 - Nous préparons une solution mère renfermant dix parties d'encre PARKER permanent blue-black pour une partie de SHEAFFER permanent red, la série permanente ayant une importance primordiale puisque ce serait par ses fixateurs que l'on pourrait, selon VIROT, obtenir la coloration différentielle.

2 - A l'aide de cette solution mère, nous préparons ensuite une solution quotidienne au 1/30 dans de l'eau distillée .

3 - Les frottis non fixés sont plongés dans la 2e solution, retirés presque immédiatement et on ajoute sur chacun d'entre eux une goutte de la 1e solution. On attend 90 secondes. On rince à l'eau et on lit au microscope.

Les résultats sont comparables à ceux obtenus avec les méthodes de colorations différentielles classiques et on discerne :

- des cellules superficielles éosinophiles colorées en rose-rouge.
- des cellules moyennes et profondes cyanophiles colorées en bleu.
- des noyaux colorés en mauve tirant sur le rose ou le bleu selon les colorations du cytoplasme.

- des polynucléaires colorés en bleu.
- une flore colorée en bleu plus ou moins foncé, souvent réfringente.

L'aspect des frottis vaginaux varie avec les différentes phases du cycle .

Ainsi, au cours du di-oestrus, première phase du cycle, d'une durée de 24 heures environ, on observe au microscope des filaments de mucus et des leucocytes à aspect réfringent en quantité abondante. Dans la deuxième phase, d'une durée approximative de deux jours, on établit une distinction entre le début du pro-oestrus, au cours duquel on observe quelques leucocytes, des cellules nucléées rondes colorées en bleu et des cellules nucléées en navette (piriformes) caractéristiques de cette phase et la fin du pro-oestrus qui présente des cellules nucléées bleues et des cellules polygonales nucléées bleues. L'oestrus qui est la phase la plus typique du cycle dure une journée et ne renferme que des cellules kératinisées (sans noyau) colorées en rouge, très souvent plicaturées et en amas. Le méta-oestrus d'une durée de six heures présente à son début quelques cellules kératinisées rouges et des cellules nucléées bleues de grande taille. Par la suite, on ne retrouve pas de traces des cellules kératinisées et on observe, en plus des cellules nucléées bleues, des leucocytes et un peu de mucus.

Les rattes sélectionnées sont alors divisées en deux groupes, un groupe de témoins et un groupe de rattes réservées aux traitements.

Le blocage de l'ovulation a été effectué avec plusieurs produits:

- l'éthinyl-oestradiol seul, la norgestriénone seule, et l'association de ces deux composés .

Pour chacune de ces trois formules, nous avons réalisé des traitements de 7, 14 et 21 jours. Ces traitements sont conduits de telle sorte que leurs débuts coïncident toujours avec le stade pro-oestrus. Les rattes sont traitées le matin, toujours à la même heure et les frottis vaginaux sont pratiqués pendant tout le temps du traitement afin de vérifier le blocage effectif de l'ovulation .

Nous devons préciser qu'un oestrus s'est toujours manifesté le lendemain du 1^{er} jour de traitement mais nous avons observé par la suite une perturbation totale du cycle puisqu'il était impossible de distinguer ses différentes phases .

Au cours de traitements de longue durée, nous avons remarqué parfois l'apparition d'un oestrus intempestif, ce qui semble vérifier les constatations de MEARS 1965 (197), que nous avons déjà citées et qui sont établies sur l'espèce humaine .

Les résultats des dosages effectués sur les ovaires de ces rattes ont été confrontés avec les résultats obtenus au cours de traitements de même durée chez des rattes n'ayant pas présenté d'oestrus et nous n'avons pas noté de différence significative entre eux .

Pour chaque antiovulatoire et pour chaque temps de traitement, l'expérience a été réalisée sur un total de dix rattes, les rattes traitées n'étant pas obligatoirement séparées des témoins et tous les animaux étant nourris normalement .

A chaque série de dix traités correspond une série de dix témoins.

Le témoin est toujours sacrifié lorsqu'il se trouve en pro-oestrus - phase du premier jour de traitement pour le traité - et le jour du pro-oestrus choisi comme jour de sacrifice sera le plus près possible de la fin du traitement de l'animal correspondant, afin de pouvoir établir des comparaisons sur des animaux de même âge. Précisons aussi que témoin et traité sont, bien entendu, exécutés de la même façon.

Les ovaires sont prélevés, broyés et les dosages des préparations enzymatiques obtenues pour un témoin et un traité, sont effectués au cours de la même manipulation .

Chaque dosage est effectué sur les ovaires d'une seule ratte, chacune des expériences pouvant ainsi être suivie sur un animal déterminé .

IV - PREPARATIONS ENZYMATIQUES :

Les rattes sont sacrifiées les matins des 8e, 15e ou 22e jour - suivant les durées des traitements qui sont respectivement de 7, 14 et 21 jours - par inhalation de chloroforme dans une enceinte étanche saturée, pendant 90 secondes environ .

Les ovaires prélevés par dissection, sont soigneusement débarrassés de toute particule grasseuse, puis placés dans un récipient hermétique afin d'éliminer les causes d'erreurs dues à la dessiccation, pesés sur balance Mettler, congelés, si le dosage ne peut pas être effectué sur le champ - les ovaires de témoins étant congelés pendant le même temps que les traités* - et homogénéisés durant exactement deux minutes à l'Ultra-Turrax, en ayant soin de maintenir la préparation, durant tout le temps de la réalisation du broyat, dans un mélange réfrigérant. L'homogénat de départ est au 1/50 dans de l'eau distillée. C'est à partir de cette solution mère que nous faisons les dilutions convenables servant aux dosages enzymatiques, dilutions au

* bien que des expériences antérieures nous aient montré que la leucine aminopeptidase ne variait pas après congélation .

1/500, 1/1000, 1/2000 pour la leucine aminopeptidase .

V - EXPRESSION DES RESULTATS :

Les résultats sont exprimés en pourcentage de substrat scindé pendant la durée de l'incubation .

Sur les différents tableaux sont portées les moyennes arithmétiques M des essais effectués pour chaque dilution et les écarts standards calculés d'après la formule suivante :

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (M - Mx)^2}{n - 1}}$$

$\sum$ = somme

M = moyenne arithmétique des résultats

Mx = résultat partiel

n = nombre d'expériences

Nous avons également calculé pour chaque moyenne M, les intervalles de confiance avec $p = 0,05$.

$$R = M \pm t \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$$

p = probabilité pour que la valeur d'un échantillon se trouve en dehors des limites trouvées .

t = coefficient de STUDENT (2,26 dans notre cas) .

σ = écart standard

n = nombre d'expériences (dix au moins dans notre cas)

VI - EFFETS SECONDAIRES :

Au cours de notre expérimentation, nous avons observé en dehors des résultats recherchés, les faits suivants : une légère perte de poils des animaux, une diminution de leur poids, une involution très nette des gonades femelles et parfois, mais rarement, accolée contre la paroi externe de l'ovaire, une sorte de petit kyste rempli d'un liquide clair .

1°) Action sur la croissance des animaux :

Différents auteurs ont montré que les progestatifs inhibent légèrement la croissance pondérale des femelles, cet effet étant une conséquence de l'activité oestrogénique. Il en est de même des oestrogènes et en particulier du dipropionate d'oestradiol (ISHIDA 1965)(I44) .

D'après nos recherches, il semblerait que la plus forte action dépressive sur la croissance pondérale des ratte soit celle de l'éthinyl-oestradiol suivie de très près par l'association (éthinyl-oestradiol plus norgestriénone) .

En effet au cours de nos traitements de 14 jours par exemple, nous observons pour l'éthinyl-oestradiol un pourcentage de diminution de poids de 12,4 % et de 10,4 % pour l'association alors qu'avec la norgestriénone, nous notons un pourcentage nettement inférieur de 4,4 % .

2°) Action sur le poids des ovaires :

Tout au long de notre expérimentation, nous avons constaté une diminution manifeste du poids des ovaires. Nos travaux viennent confirmer les observations faites antérieurement par quelques chercheurs puisque, après administration d'éthinyl-oestradiol, WATNICK et coll. 1964 (339), FUJII et coll. 1965 (92), PLAZONNET 1968 (252) et ISHIDA 1965 (I44) après administration de dipropionate d'oestradiol ont montré une nette diminution du poids de l'ovaire. De même, SAUNDERS et coll. 1958 (284), OVERBEEK et coll. 1962 (234), HOLMES et coll. 1962 (I38), MUNSHI 1963 (210) signalent que le lynestrénol et le noréthynodrel entraînent un effet analogue (tableau III), cette involution réversible étant due selon HOLMES et coll. 1962 (I38), WAKELING 1965 (336), TOTH et coll. 1966 (322), CAILLARD et coll. 1968 (37) à une diminution de volume du tissu lutéal .

	Rattes traitées au noréthynodrel				Témoins
	33 j.	47-50 j.	68 j.	86 j.	33-86 j.
Durée du traitement	33 j.	47-50 j.	68 j.	86 j.	33-86 j.
Nombre de ratte	5	5	4	5	8
Poids des ovaires (mg)	28,2	33,1	29,6	33,6	66,4

Tableau III : Résultats publiés par HOLMES et coll. 1962 (I38) .

Quant à nos résultats personnels, ils sont consignés dans les tableaux IV, V, VI.

Animaux témoins et Animaux traités	Nombre d'animaux	Poids moyen des ovaires (grammes)		Diminution du poids des ovaires (en p. cent.)
		M	σ	
Témoins	10	0,0702	0,0110	15,2 %
Traités éthinyloestradiol	12	0,0595	0,0134	
Témoins	10	0,0702	0,0110	17,8 %
Traités norgestriénone	12	0,0577	0,0103	
Témoins	10	0,0704	0,0133	25,8 %
Traités association	12	0,0522	0,0118	

Tableau IV : Variations du poids des ovaires de rattes pubères sacrifiées après traitements de 7 jours consécutifs soit à l'éthinyloestradiol (100 μ g par jour *per os*), soit à la norgestriénone (500 μ g par jour *per os*), soit à l'association de ces deux composés (mêmes doses que lorsqu'ils sont utilisés à l'état pur).

Animaux témoins et Animaux traités	Nombre d'animaux	Poids moyen des ovaires (grammes)		Diminution du poids des ovaires (en p. cent.)
		M	σ	
Témoins	10	0,0677	0,0126	23,1 %
Traités éthinyloestradiol	10	0,0520	0,0058	
Témoins	10	0,0677	0,0126	12,5 %
Traités norgestriénone	10	0,0592	0,0191	
Témoins	10	0,0785	0,010	35,2 %
Traités association	10	0,0508	0,011	

Tableau V : Variations du poids des ovaires de rattes pubères sacrifiées après traitements de 14 jours consécutifs dans les mêmes conditions qu'au tableau IV.

Animaux témoins et Animaux traités	Nombre d'animaux	Poids moyen des ovaires (grammes)		Diminution du poids des ovaires (en p. cent.)
		M	σ	
Témoins	10	0,0668	0,0079	7,3 %
Traités éthinyloestradiol	10	0,0619	0,0117	
Témoins	10	0,0664	0,0064	13,4 %
Traités norgestriénone	10	0,0575	0,0224	
Témoins	10	0,0618	0,0117	16 %
Traités association	10	0,0519	0,0060	

Tableau VI : Variations du poids des ovaires de rattes pubères sacrifiées après traitements de 21 jours consécutifs dans les mêmes conditions qu'au tableau IV.

Après consultation de nos résultats exposés ci-dessus dans les tableaux IV, V, VI, nous sommes amenée à conclure que l'association (oestrogène plus progestatif) semble agir davantage sur le poids des ovaires que chacun des produits utilisés séparément.

D'autre part, le maximum d'action de l'éthinyloestradiol et de l'association (éthinyloestradiol plus norgestriénone) semble se trouver entre 14 et 21 jours puisque nous observons au 21^e jour de traitement un pourcentage de diminution de poids des ovaires beaucoup moins important qu'après 7 jours et 14 jours de traitement.

Quant à la norgestriénone, son maximum d'action se situerait entre le 7^e et le 14^e jour de traitement puisque le pourcentage de diminution des gonades femelles est plus important après 7 jours qu'après 14 et 21 jours. Nous observons même entre 14 et 21 jours une stabilisation des ovaires puisque les moyennes comparées entre témoins et traités de 14 et 21 jours ne présentent pas de différence significative (test de STUDENT).

CHAPITRE II

ACTIVITE LEUCINE AMINOPEPTIDASIQUE

I - DEFINITION :

La leucine aminopeptidase est une exopeptidase manifestant son action hydrolysante à l'égard de nombreux amides ou peptides ayant un groupe amine libre et une configuration L (BENGT 1961)(20). Elle doit son nom au fait qu'elle réagit plus rapidement avec les composés de la leucine, de la L-leucine-amide et des peptides à leucine .

II - HISTORIQUE :

En 1929, LINDERSTROM-LANG (171) remarque que la leucylglycine, l'alanylglycine et la glycylglycine ne sont pas hydrolysées par une seule et même enzyme. L'enzyme qui hydrolyse la leucylglycine reçoit le nom de leucine aminopeptidase. Plus tard, SMITH en 1951 (297) démontre que seule la forme L de la leucine-amide est susceptible d'être hydrolysée par cette distase; et en 1955, GREEN et coll. (118) et FOLK et coll. (86) établissent sa détermination colorimétrique.

III - REPARTITION :

Sa présence a été décelée dans de nombreux tissus animaux, végétaux et chez les micro-organismes (MILLONIG 1956)(200). Elle a une distribution apparemment intracellulaire dans le règne animal (SMITH et coll. 1960)(298).

SMITH (296) la découvre en 1948 dans le muscle et dans l'utérus et elle est présente en grande quantité dans certains organes spécialisés tels que rate (FRUTON et coll. 1941)(89), (TALLAN et coll. 1952)(315), poumons (FRUTON 1946)(90), (DANNENBERG et coll. 1955)(55), coeur (SMITH 1948)(296), thymus (FRUTON et coll. 1948)(91), (WEISS 1953)(340), rein (DEKKER et coll. 1949)(60), hypophyse (ADAMS et coll. 1951)(1), foie, duodénum (GOLDBARG et

coll. 1959 (106). Elle apparaît également dans le plasma (FRUTON 1946)(90), la bile, le liquide amniotique (BEECHAM et coll. 1962)(18), le placenta, le liquide céphalorachidien où elle est aisément dosable, les sangs de la mère et du nouveau-né (BASTIDE et coll. 1961)(14), les éléments figurés du sang - les plaquettes sanguines (DASTUGUE et coll. 1961)(57), les hématies (DASTUGUE et coll. 1962)(58) - ainsi que dans l'humeur aqueuse, le corps vitré et la rétine (BASTIDE 1961)(13), (BASTIDE et coll. 1961)(15), (DASTUGUE et coll. 1963)(59), (JONADET 1967)(148). Enfin, comme nous l'avons déjà indiqué dans la partie bibliographique, NACHLAS et coll. 1957 (213) la décèlent en quantité importante dans les ovaires de cobaye et elle est localisée en particulier dans l'albuginée, l'épithélium germinatif, les vaisseaux sanguins et les follicules. En 1965, KONIG (157) signale sa présence dans les ovaires de femme, principalement dans les thèques et le corps jaune de gestation .

IV - SPECIFICITE :

Cette enzyme n'est pas strictement spécifique des liaisons peptidiques dans lesquelles se trouve engagée la leucine. Elle agit également sur toutes celles dont les aminoacides ont un azote terminal et une chaîne aliphatique secondaire, son efficacité variant avec la position de cette chaîne .

En 1962, NACHLAS et coll. (214) affirment la non spécificité de la leucine aminopeptidase avec "probabilité que plus d'une existe" et un peu plus tard, FLEISHER et coll. 1964 (84) découvrent que la L-leucylglycine et la L-leucyl- β -naphtylamide ne sont pas hydrolysées par la même enzyme. Enfin, c'est NAKAGAWA et coll. 1964 (217) qui mettent en évidence que la leucine aminopeptidase est responsable de l'hydrolyse de la leucine-amide mais non de celle de la L-leucyl- β -naphtylamide .

V - INHIBITEURS ET ACCELERATEURS :

L'action de la leucine aminopeptidase se trouve nettement accélérée en présence d'ions Mn^{++} et Mg^{++} (BRYCE et coll. 1954)(34) .

Par contre, les ions Ca^{++} et Co^{++} n'ont aucun effet sur son activité, les ions Ni^{++} et Zn^{++} sont légèrement inhibiteurs et les ions Cd^{++} , Cu^{+} , Hg^{++} et Pb^{++} l'inhibent complètement (SMITH et coll. 1960)(298).

Trois autres types d'inhibiteurs, en plus de l'ion métal, sont connus. Ce sont :

- les composés capables de se combiner avec l'ion métal activateur (EDTA, citrate).

- les substances ayant de longues chaînes aliphatiques (C2 à C6) qui entrent probablement en compétition avec la zone hydrophobe du site actif (alcools aliphatiques à chaîne linéaire) .

- les substances qui peuvent entrer en compétition à la fois avec l'ion métal et le site hydrophobe : L-leucine, L-leucinol, isocaproamide, acide isocaproïque, n-hexylamine, α cétoisocaproamide, DL α hydroxyisocaproamide .

VI - HETEROGENEITE :

SCHOBEL et coll. 1962 (288) ont pu isoler dans le cas de la leucine aminopeptidase, dont le poids moléculaire est de 75 000 à 80 000, neuf iso-enzymes ou icelo-enzymes, fractions ayant des caractéristiques chimiques quasi identiques mais des vitesses de migration électrophorétique différentes

L'apparition dans le sérum d'une fraction ou d'une certaine combinaison de celles-ci serait le témoin plus ou moins spécifique d'une affection bien définie .

Chez le sujet normal par contre, une ou deux fractions seulement ont pu être isolées .

En 1964, WAJIMA et coll. (335) en recherchant la LAP par électrophorèse dans des homogénats de tissus ont isolé des fractions différentes de cette enzyme selon les organes envisagés. Enfin, des formes multiples ont été décrites dans les extraits de foie humain, de pancréas, de rein, de placenta par LATNER en 1967 (165) .

VII - DOSAGE :

L'activité leucine aminopeptidasique est appréciée suivant la technique de GOLDBARG et coll. 1958 (105) légèrement modifiée par BASTIDE 1963 (14) .

1°) Principe :

In vitro, cette enzyme catalyse la réaction suivante :



La quantité de β -naphthylamine libérée est appréciée par photolorimétrie à 560 m μ selon la technique de BRATTON et coll. 1939 (27) .

2°) Réactifs :

- Solution tampon de phosphates 0,2 M de pH = 7,0 :

Mélanger en proportions convenables $\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$ à 27,4 g.p.l. (40 ml) et $\text{PO}_4\text{HNa}_2 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ à 71,6 g.p.l. (60 ml) . Conserver à +4°C .

- Solution de L-leucyl- β -naphtylamide, HCl : $3,425 \cdot 10^{-4}$ M

(P.M. = 292,7)

Préparer une solution aqueuse de chlorhydrate de L-leucyl- β -naphtylamide à 0,2 mg par ml et mélanger à parties égales avec le tampon phosphate. Répartir en flacons de polythène. Conserver à -25°C .

- Solution aqueuse de nitrite de sodium à 0,1 p.cent :

Préparer quotidiennement la solution dans de l'eau distillée glacée.

- Solution aqueuse de sulfamate d'ammonium à 0,5 p.cent :

Conserver à +4°C .

- Solution de chlorhydrate de N-naphtyléthylènediamine à 0,05

p.cent dans l'éthanol à 95°.

Conserver à +4°C dans des flacons en verre coloré .

- Solution d'acide trichloracétique à 15 p.cent :

Conserver à +4°C .

- Solution de β -naphtylamine à $3,425 \cdot 10^{-4}$ M (P.M. = 143,2) :

Préparer une solution mère : 49,04 mg de β -naphtylamine, 50 ml d'éthanol à 95°, eau distillée q.s.p. 100 ml. La solution aqueuse à 4,90 mg p.cent ml s'obtient par dilution au 1/10 de la solution mère . A préparer extemporanément .

3°) Mode opératoire :

Préparer deux témoins (non incubés).

- témoin n° 1 (réglage du photocolorimètre) : 1 ml de solution tampon et 1 ml d'eau distillée .

- témoin n° 2 (substances diazotables de la préparation enzymatique) : 1 ml de solution tampon phosphate et 1 ml de préparation enzymatique

Faire incuber pendant 30 à 60 minutes dans un bain-marie à 37°C.

- chaque essai (hydrolyse enzymatique) : 1 ml de préparation enzymatique et 1 ml de substrat $3,425 \cdot 10^{-4}$ M .

Au terme de l'incubation, ajouter dans tous les tubes 1 ml d'acide trichloracétique à 15 pour cent pour arrêter la réaction. Agiter, centrifuger, prélever 1 ml de surnageant et ajouter successivement à la température du laboratoire :

- 1 ml de solution de nitrite de sodium à 0,1 p.cent. Agiter .

Repos 3 minutes .

- 1 ml de solution de sulfamate à 0,5 p.cent. Agiter.

Repos 2 minutes .

- 2 ml de solution de N-naphtyléthylène diamine à 0,05 p.cent.

Agiter. Repos 20 à 60 minutes à la température du laboratoire, à l'obscurité. Effectuer la lecture au photolorimètre à 560 mμ .

L'étalonnage est effectué à l'aide de la solution de β-naphtylamine $3,425 \cdot 10^{-4}$ M dont les volumes de 0, 0,1 0,9, 1 ml additionnés de 1, 0,9 0,1, 0 ml d'eau distillée sont mis à la place du substrat et correspondent respectivement à 0, 10 90, 100 p.cent d'hydrolyse.

VIII - RESULTATS :

1°) Après traitements de 7, 14 et 21 jours à l'éthinyl-oestradiol:

Rappelons brièvement, comme nous l'avons indiqué précédemment (chapitre I, paragraphe III) qu'il s'agit d'étudier l'activité de la leucine aminopeptidase dans les ovaires de ratte pubères, âgées de 56 jours environ, après traitements de diverses durées .

Nos expériences ont été réalisées avec un oestrogène, l'éthinyl-oestradiol, maintenu en suspension dans une pseudo-solution de carboxyméthyl-cellulose, suspension que nous avons administrée par voie orale au moyen d'une sonde. Chaque ratte traitée recevait tous les matins 0,5 ml de la suspension renfermant 0,1 mg d'éthinyl-oestradiol. Le 1^e jour du traitement doit toujours coïncider avec le stade pro-oestrus. Nous avons ainsi administré de l'éthinyl-oestradiol à trois séries de dix rattes environ :

- la 1^e série comportant 12 rattes que nous avons traitées pendant 12 jours consécutifs .

- la 2^e comportant 10 rattes traitées pendant 14 jours consécutif

- la 3^e série enfin, constituée par 10 rattes qui ont été "intubées" pendant 21 jours consécutifs .

A chaque série de traitées correspond une série de 10 témoins .

Nous avons condensé nos résultats obtenus dans le tableau VII qui comporte aussi le calcul de l'écart type et dans le tableau VIII, nous donnons les intervalles de confiance établis pour chaque valeur de l'activité leucine aminopeptidasique .

Dilutions de l'homogénat	Nombre d'animaux	Témoins		Traités (7 j.)		Témoins		Traités (14 j.)		Témoins		Traités (21 j.)	
		10		12		10		10		10		10	
	Durée de l'incubation (minutes)	M	σ	M	σ	M	σ	M	σ	M	σ	M	σ
1/500	30	37,3	3,9	31,1	3,4	36,9	2,4	29,1	3,5	37,9	2,2	21	4,3
	60	62	5,6	56,9	2,5	64	1,1	53,5	3,7	66,1	3,7	49,4	5,3
1/1000	30	17,1	2,4	14,5	2,3	17	0,95	13,4	0,69	18,2	1,3	14,2	3,7
	60	29,2	5,6	27,4	3,1	31,6	3,4	25,1	0,81	31,5	2,6	24	3
1/2000	30	7,1	1,6	6,4	1,5	7,1	1,5	6	0,36	8	0,97	6,6	1,2
	60	11,9	1,7	11,6	2	12,4	1,6	11	0,94	13,5	1,4	11,6	1,7
Poids moyen des ovaires (grammes)		0,0702	0,0110	0,0595	0,0134	0,0677	0,0126	0,0520	0,0058	0,0668	0,0079	0,0619	0,0117

Tableau VII : Activité leucine aminopeptidasique dans les ovaires de ratte pubères sacrifiées après traitement de 7, 14 et 21 jours consécutifs à l'éthinyl-oestradiol (100 µ g par jour, *per os*), exprimée en pourcentage de substrat métabolisé.

Dilutions de l'homogénat	Durée de l'incubation	Intervalles de confiance : $M \pm t \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$					
		Témoins	Traités (7j.)	Témoins	Traités (14j.)	Témoins	Traités (21j.)
1/500	30	37,3 $\pm$ 2,8	31,1 $\pm$ 2,4	36,9 $\pm$ 1,7	29,1 $\pm$ 2,5	37,9 $\pm$ 1,6	21 $\pm$ 3,1
	60	62 $\pm$ 4	56,9 $\pm$ 1,8	64 $\pm$ 2,2	53,5 $\pm$ 2,6	66,1 $\pm$ 2,6	49,4 $\pm$ 3,8
1/1000	30	17,1 $\pm$ 1,7	14,5 $\pm$ 1,6	17 $\pm$ 0,7	13,4 $\pm$ 0,5	18,2 $\pm$ 0,9	14,2 $\pm$ 2,6
	60	29,2 $\pm$ 4	27,4 $\pm$ 2,2	31,6 $\pm$ 2,4	25,1 $\pm$ 0,6	31,5 $\pm$ 1,8	24 $\pm$ 2,1
1/2000	30	7,1 $\pm$ 1,1	6,4 $\pm$ 1,1	7,1 $\pm$ 1,1	6 $\pm$ 0,2	8 $\pm$ 0,7	6,6 $\pm$ 0,8
	60	11,9 $\pm$ 1,2	11,6 $\pm$ 1,4	12,4 $\pm$ 1,1	11 $\pm$ 0,7	13,5 $\pm$ 1	11,6 $\pm$ 1,2

Tableau VIII : Intervalles de confiance pour les ratte témoins et traitées à l'éthinyloestradiol.

Nous constatons que l'enzyme s'abaisse régulièrement dans les ovaires de ratte pubères traitées à l'éthinyl-oestradiol et l'analyse de la variance calculée selon l'ABC des statistiques de GELLER 1967 (100) et dont nous exposons un bref résumé nous permet de penser que ces différences sont bien dues au traitement.

Pour l'analyse de la variance, nous calculons :

1 - La variance intra-groupe :

$$V_A = \frac{1}{N - k} \sum_{i=1}^k (x_i - m_i)^2$$

2 - La variance inter-groupe :

$$V_B = \frac{1}{k - 1} \sum_{i=1}^k n (m - M)^2$$

M = moyenne générale

m = moyenne d'un groupe

n = nombre d'expériences dans un groupe

N = nombre total d'expériences

k = nombre de groupes

3 - Nous calculons ensuite :

$$F = \frac{V_A}{V_B} \quad \text{pour } V_A > V_B$$

$$F = \frac{V_B}{V_A} \quad \text{pour } V_A < V_B$$

Nous reportons cette valeur de F dans la table de SNEDECOR pour les degrés de liberté que nous avons, afin de pondérer la signification .

Premier degré de liberté = k-1

Deuxième degré de liberté = N-k

Dans le cas de l'éthinyl-oestradiol, la valeur de F pour une dilution au 1/500 et un temps d'incubation de 60 minutes est de 23 . Et si nous nous reportons à la table de SNEDECOR, nous constatons que nous avons nettement moins de une chance sur cent pour que les différences observées dans les quatre classes soient dues purement au hasard .

De plus, une analyse plus fine, effectuée en comparant les classes deux à deux, c'est-à-dire de 0 à 7 jours, de 7 à 14 jours et de 14 à 21 jours nous montre que les différences observées entre chaque tranche de traitement

sont également significatives (test de STUDENT) ce qui confirme la courbe représentative de l'activité de l'éthinyl-oestradiol sur la leucine aminopeptidase (courbe n° 2), puisque cette dernière décroît régulièrement de 0 à 21 jours de traitement .

Enfin, le pourcentage de diminution (obtenu par comparaison entre témoins et traités, ces derniers étant pris autant que possible dans les mêmes conditions que les traités) passe de 8,2 % après 7 jours de traitement à 16,4 % après 14 jours et à 25,3 % après 21 jours, ceci pour une dilution au 1/500 et après 60 minutes d'incubation. Et si nous nous reportons à nos courbes tracées (courbe n° 3) nous constatons que nos points sont parfaitement alignés, ce qui semble prouver une action régulière et croissante de l'éthinyl-oestradiol sur la leucine aminopeptidase .

2°) Après traitements de 7, 14 et 21 jours à la norgestriénone :

Nos traitements sont conduits de la même façon qu'avec l'éthinyl-oestradiol mais les 0,5 ml de suspension administrée renferment 0,5 mg de norgestriénone .

- Dans la première série de dix animaux, la norgestriénone a été administrée pendant 7 jours consécutifs .

- La deuxième série de dix animaux a été "intubée" pendant 14 jours consécutifs .

- La troisième série comportant aussi 10 animaux subit un traitement de 21 jours consécutifs .

L'activité de la leucine aminopeptidase a aussi été déterminée dans trois séries de témoins correspondant chacune à une série de traités .

Nos résultats obtenus ont été consignés dans le tableau IX et les intervalles de confiance calculés dans le tableau X .

Dilutions de	Nombre d'animaux	Témoins		Traités (7j.)		Témoins		Traités (14j.)		Témoins		Traités (21j.)	
		10		12		10		10		10		10	
	Durée de l'incubation (minutes)	M	σ	M	σ	M	σ	M	σ	M	σ	M	σ
1/500	30	37,3	3,9	33,2	4,7	39	3,3	34,9	4,6	39,8	4,7	33,1	4,5
	60	62	5,6	56,9	7,3	66,7	5,2	60,7	7,3	66,9	8,5	59,7	7,3
1/1000	30	17,1	2,4	15,5	2,5	19,4	3,5	15,4	2,1	18,9	3,2	15	2,4
	60	29,2	5,6	26,4	4,2	32,3	4,3	28,2	3,3	31,1	5,9	25,9	4
1/2000	30	7,1	1,6	6,5	1,3	8,6	2,1	7,6	1,5	8,7	2,4	6,3	1,4
	60	11,9	1,7	10,9	2,7	13,7	2,8	13,6	2,2	13,7	3,7	11,4	2,4
Poids moyen des ovaires (grammes)		0,0702	0,0110	0,0577	0,0103	0,0677	0,0126	0,0592	0,0191	0,0664	0,0064	0,0575	0,0224

Tableau IX : Activité leucine aminopeptidasique dans les ovaires de ratte pubères sacrifiées après traitements de 7, 14 et 21 jours consécutifs à la norgestriénone (500 gupar jour *per os*) exprimée en pourcentage de substrat métabolisé.



Dilutions de l'homogénat	Durée de l'incubation	Intervalles de confiance : $M \pm t \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$					
		Témoins	Traités (7j.)	Témoins	Traités (14j.)	Témoins	Traités (21j.)
1/500	30	37,3 $\pm$ 2,6	33,2 $\pm$ 3,4	39 $\pm$ 2,4	34,9 $\pm$ 3,3	39,8 $\pm$ 3,4	33,1 $\pm$ 3,2
	60	62 $\pm$ 4	56,9 $\pm$ 5,2	66,6 $\pm$ 3,7	60,7 $\pm$ 5,2	66,9 $\pm$ 6,1	59,7 $\pm$ 5,2
1/1000	30	17,1 $\pm$ 1,7	15,5 $\pm$ 1,8	19,4 $\pm$ 2,5	16,4 $\pm$ 1,5	18,9 $\pm$ 2,3	15 $\pm$ 1,7
	60	29,2 $\pm$ 4	26,4 $\pm$ 3	32,3 $\pm$ 3,1	28,2 $\pm$ 2,4	31,1 $\pm$ 4,2	25,5 $\pm$ 2,8
1/2000	30	7,1 $\pm$ 1,1	6,5 $\pm$ 0,9	8,6 $\pm$ 1,5	7,6 $\pm$ 1,1	8,7 $\pm$ 1,7	6,3 $\pm$ 1
	60	11,9 $\pm$ 1,9	10,9 $\pm$ 1,9	13,7 $\pm$ 2	13,6 $\pm$ 1,6	13,7 $\pm$ 2,6	11,4 $\pm$ 1,7

Tableau X : Intervalles de confiance pour les rattes témoins et traitées à la norgestriénone.

Après lecture du tableau IX, nous pouvons constater que la norgestriénone agit pendant les 7 premiers jours tout autant que l'éthinyl-oestradiol (tableau VII) mais par la suite, son action est beaucoup moins intense .

Cependant, l'analyse de la variance, réalisée pour une dilution au 1/500 et un temps d'incubation de 60 minutes, nous donne une valeur de F égale à 1,9, ce qui n'est pas significatif. Quant au test de STUDENT effectué de classe en classe, il prouve que les faibles variations obtenues entre 7 et 14 jours et 14 et 21 jours ne sont pas significatives et que les variations entre 0 et 7 jours ne le sont qu'à 8 %. Nous devons donc les considérer comme négatives puisque nous nous sommes fixé un indice de probabilité de 0,05. Cette différence entre la norgestriénone et l'éthinyl-oestradiol provient du fait que non seulement les intervalles de confiance de la norgestriénone sont beaucoup plus élevés que ceux de l'oestrogène mais aussi du fait qu'ils se recouvrent l'un l'autre .

La courbe représentative de l'activité de la norgestriénone sur la leucine aminopeptidase (courbe n° 2) présente donc des variations que l'on ne peut pas, statistiquement, attribuer au traitement .

Quant aux pourcentages d'activité effectués pour la même dilution et le même temps d'incubation qu'avec l'éthinyl-oestradiol, ils sont de 8,2 % après 7 jours de traitement, de 9 % après 14 jours et de 10,8 % après 21 jours .

La courbe représentative de ce pourcentage de diminution d'activité (courbe n° 3) présente un palier à partir du 7^e jour de traitement jusqu'au 21^e jour, alors que pendant les sept premiers jours du traitement, elle subit une élévation régulière identique à celle de l'éthinyl-oestradiol mais nous venons de voir qu'il y a 8 % de chances pour que ces fluctuations soient dues au hasard (choix de la population, expérimentation) .

3°) Après traitements de 7, 14 et 21 jours à l'association :

La suspension que nous administrons, toujours de la même façon à nos animaux, renferme un mélange d'éthinyl-oestradiol et de norgestriénone de telle sorte que 0,5 ml de cette suspension contiennent 0,1 mg d'éthinyl-oestradiol et 0,5 mg de norgestriénone .

Nous avons toujours trois séries de dix animaux chacune que nous traitons pendant des périodes de temps différentes . C'est ainsi que la première série sera traitée pendant 7 jours consécutifs, la deuxième série pendant 14 jours consécutifs et la troisième série pendant 21 jours

consécutifs .

Comme pour les traitements avec les produits utilisés séparément nous avons une série de témoins pour chaque série de traités .

Nos résultats obtenus ont été indiqués dans le tableau XI et les intervalles de confiance dans le tableau XII.

Après l'analyse de la variance effectuée pour notre dernière expérimentation réalisée avec l'association(éthinyloestradiol plus norgestriénone) , il est logique de penser que les variations observées sont dues au traitement puisque les différences trouvées sont très significatives. En effet, F étant égal à 59,5, nous avons ici beaucoup moins de une chance sur cent pour que les différences obtenues soient dues au hasard.

Cependant, une analyse plus fine, le test de STUDENT, nous démontre que les variations entre 7 et 14 jours et 14 et 21 jours ne sont pas dues à la poursuite du traitement mais uniquement au hasard. L'association oestrogène-progestatif agirait donc sur la leucine aminopeptidase , surtout au cours des 7 premiers jours, puis son action se stabiliserait. C'est ce que nous pouvons vérifier en consultant la courbe représentative de son activité (courbe n° 2) .

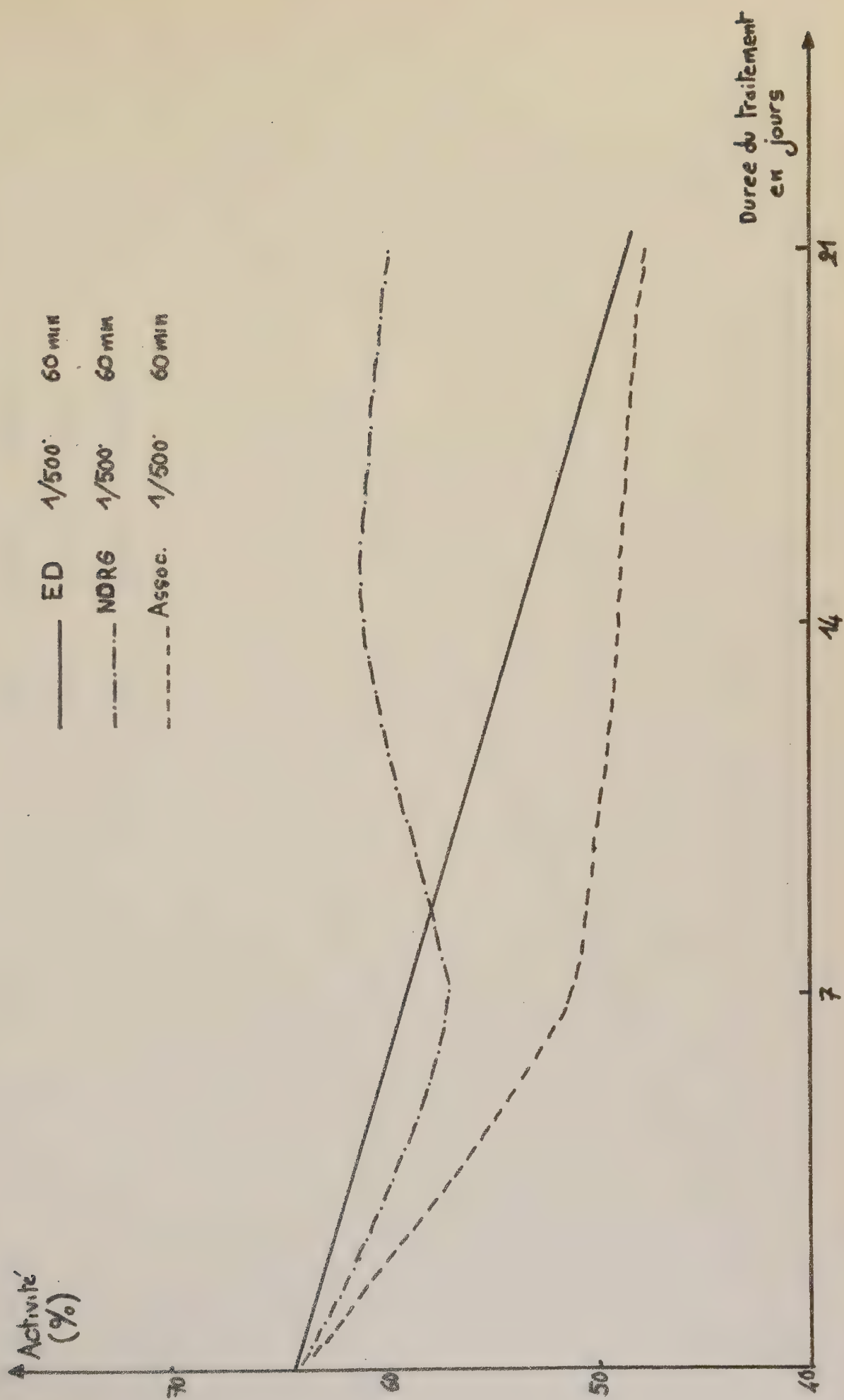
Enfin, étant donné que le pourcentage de diminution s'élève de zéro à 21,1 % après 7 jours de traitement, puis passe à 24,4 % après 14 jours et à 14,8 % après 21 jours, la courbe représentative de ce pourcentage (courbe n° 3) manifeste une rapide élévation jusqu'au 7e jour de traitement, puis elle semble s'aplanir du 7e au 14e jour et enfin, elle subit une faible diminution au cours de la dernière semaine de traitement .

Dilutions de l'homogénat	Nombre d'animaux	Témoins		Traités (7j.)		Témoins		Traités (14j.)		Témoins		Traités (21j.)	
		10		12		11		10		10		10	
	Durée de l'incubation (minutes)	M	σ	M	σ	M	σ	M	σ	M	σ	M	σ
1/500	30	38,9	4,3	27,1	4,1	36,5	5,6	25,8	3,5	31,9	6,1	26,5	3,9
	60	64,9	5,3	51,2	4,8	70,4	8,5	53,2	7,8	59,6	7,8	51,1	3,9
1/1000	30	17	2,9	14,6	1,5	20,2	3,5	13,6	2,3	17,5	2,4	14,5	1,5
	60	28,8	4,7	26,5	3,1	40,8	5,3	26,7	4,1	30,6	3,5	26,1	2,8
1/2000	30	8	2	6,9	1,2	10	2,6	6,3	1,6	8,2	1,7	6,4	0,7
	60	14,7	2,9	12,4	1,9	17,2	3,9	11,9	2,4	14,7	1,7	11,8	1,4
Poids moyen des ovaires (grammes)		0,0704	0,0133	0,0522	0,0118	0,0785	0,010	0,0508	0,011	0,0618	0,0117	0,0519	0,006

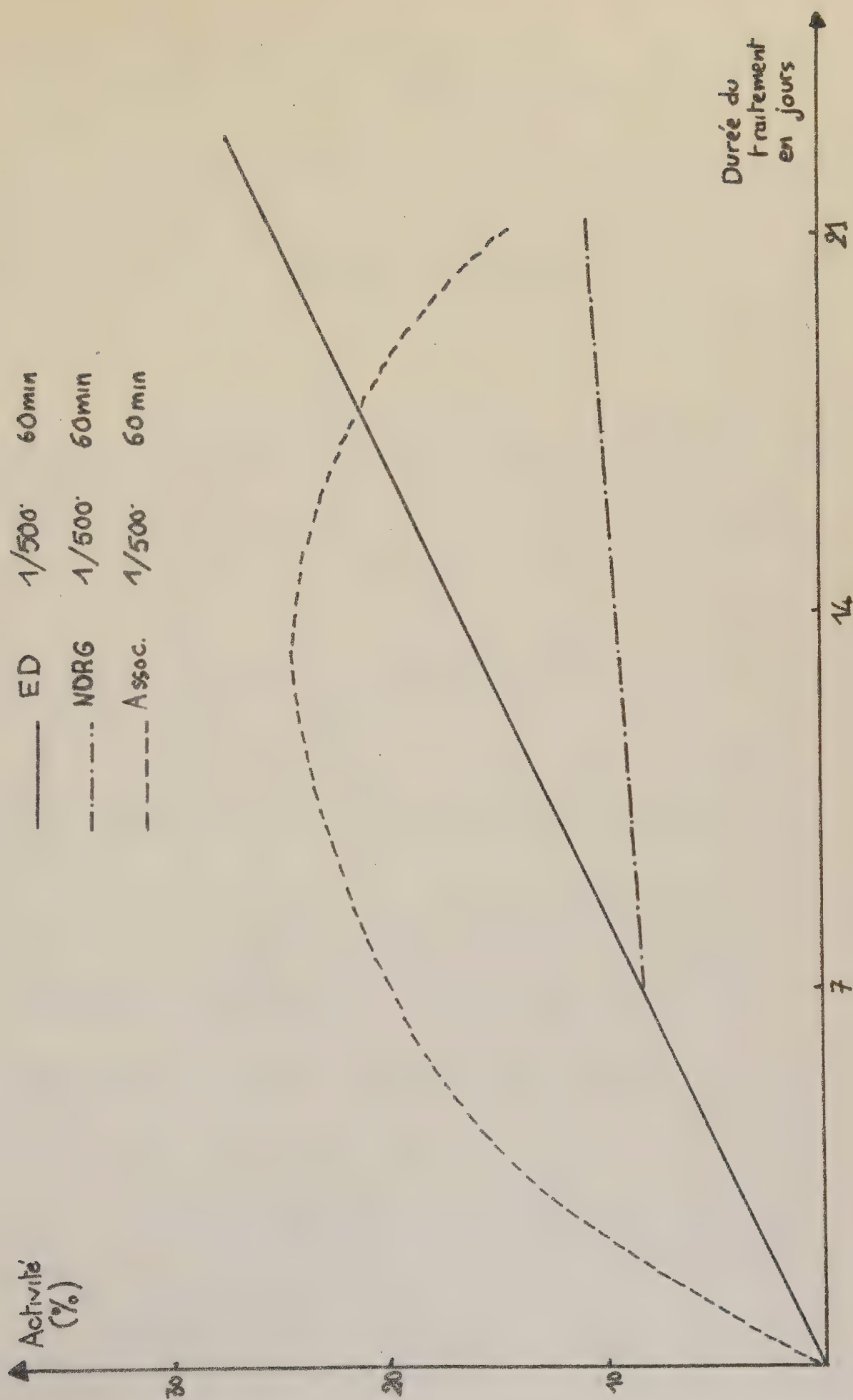
Tableau XI : Activité aminopeptidasique dans les ovaires de ratte pubères sacrifiées après traitements de 7, 14 et 21 jours consécutifs à l'association éthynyl-oestradiol plus norgestriénone (100 μ g d'éthynyl-oestradiol plus 500 μ g de norgestriénone, par jour, *per os*), exprimée en pourcentage de substrat métabolisé.

Dilutions de l'homogénat	Durée de l'incubation en minutes	Intervalles de confiance : $M \pm t \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$					
		Témoins	Traités (7j.)	Témoins	Traités (14j.)	Témoins	Traités (21j.)
1/500	30	38,9 $\pm$ 3,1	27,1 $\pm$ 2,9	36,5 $\pm$ 3,8	25,8 $\pm$ 2,5	31,9 $\pm$ 4,4	26,5 $\pm$ 2,8
	60	64,9 $\pm$ 3,8	51,8 $\pm$ 3,4	70,4 $\pm$ 5,7	53,2 $\pm$ 5,5	59,6 $\pm$ 5,6	51,1 $\pm$ 2,8
1/1000	30	17 $\pm$ 2,1	14,6 $\pm$ 1,1	20,2 $\pm$ 2,3	13,6 $\pm$ 1,6	17,5 $\pm$ 1,7	14,5 $\pm$ 1,1
	60	28,8 $\pm$ 3,4	26,5 $\pm$ 2,2	40,8 $\pm$ 3,6	26,7 $\pm$ 2,9	30,6 $\pm$ 2,5	26,1 $\pm$ 2
1/2000	30	8 $\pm$ 1,4	6,9 $\pm$ 0,8	10 $\pm$ 1,7	6,3 $\pm$ 1,1	8,2 $\pm$ 1,2	6,4 $\pm$ 0,5
	60	14,7 $\pm$ 2,1	12,4 $\pm$ 1,4	17,2 $\pm$ 2,6	11,9 $\pm$ 1,7	14,7 $\pm$ 1,2	11,8 $\pm$ 1

Tableau XII : Intervalles de confiance pour les Rattes témoins et traitées à l'association:éthynyl-oestradiol plus norgestriénone.



COURBE N° 2



COURBE N° 3

CHAPITRE III

ESQUISSE D' INTERPRETATION

Les drogues que nous avons employées, bien qu'étant des substances de synthèse et utilisées sous la forme de mélanges dont on ne peut retrouver l'équivalent dans les humeurs de l'organisme , restent chimiquement parlant étroitement apparentées aux hormones véritables qui en l'occurrence ont d'ailleurs manifestement servi de modèle.

Il nous est donc permis de penser que le mécanisme d'action de ces produits, comme celui des hormones correspondantes, passe par des intermédiaires enzymatiques pour exercer au moment adéquat les actions physiologiques qui leur sont propres.

Malheureusement le mécanisme précis d'action des agents hormonaux se trouve encore en discussion et ce serait sortir du cadre de ce travail que d'essayer de retracer un problème qui est encore en pleine évolution.

Nous nous contenterons de rappeler que cinq sites d'action généraux ont été proposés pour essayer d'expliquer le mode d'action des hormones et , l'importance des cinq mécanismes qui s'ensuivent varie avec l'étude de la fonction hormonale dans les différents tissus.

I- INDUCTION DE LA SYNTHÈSE ENZYMATIQUE AU NIVEAU NUCLEAIRE:

Cette action hormonale lente peut nécessiter des heures et même des jours avant de se manifester.

Différentes hormones et les corticostéroïdes en particulier peuvent augmenter la synthèse d'une enzyme ou d'un groupe d'enzymes par stimulation de la production d'ARN dans le noyau.

Pour mettre en évidence cette action nucléaire, on peut, soit procéder à un marquage qui permet de retrouver les hormones dans le noyau,

soit prouver l'augmentation de la synthèse d'ARN en mesurant l'incorporation, dans l'ARN nucléaire, de précurseurs marqués tels que l'acide orotique ou la glycine.

Nous savons que les hormones stéroïdes augmentent la synthèse de l'ARN total (ARN messager, ARN de transport, ARN ribosomal) par le noyau. Et la relation entre la variation de l'ARN total et l'augmentation ou la diminution de l'activité de certaines enzymes ne peut être établie de façon certaine du fait de l'impossibilité d'identifier les différents ARN messagers que synthétise le noyau et qui déterminent la synthèse des enzymes.

Ainsi, une hormone peut agir au moyen de ce mécanisme même si elle n'a pas entraîné une augmentation très nette de la synthèse d'ARN total car, en effet, elle peut augmenter l'ARN pour une enzyme spécifique et le diminuer pour d'autres.

Cette activité nucléaire peut également être mise en évidence par les variations subies par les chromosomes (phénomène de gonflement -"puffing"- observé après administration d'ecdysone par exemple) .

Enfin, l'augmentation de l'activité enzymatique peut être empêchée par addition d'un inhibiteur de la synthèse d'ARN tel que l'actinomycine D, ce qui prouve que les hormones agissent sur les enzymes par l'intermédiaire d'un effet sur la synthèse d'ARN.

II- STIMULATION DE LA SYNTHÈSE ENZYMATIQUE AU NIVEAU RIBOSOMAL:

L'activité se manifeste non seulement au niveau du mécanisme permettant la production de protéines enzymatiques, mais aussi au niveau où s'effectue la translation de l'information contenue dans l'ARN messager.

III- ACTIVATION DIRECTEMENT AU NIVEAU ENZYMATIQUE:

L'administration de certaines hormones à un animal ou dans un tissu isolé modifie l'activité enzymatique sans que cette variation soit en relation avec la synthèse *de novo* . Ces effets sont très rapides et difficiles à démontrer sauf dans le cas d'homogénats cellulaires où l'on a pu mettre en évidence l'activation de la phosphorylase sous l'influence du glucagon ou de l'adrénaline.

IV- ACTIVATION AU NIVEAU DE LA MEMBRANE:

Glucides, acides aminés, cations et nucléotides nécessitent la présence d'hormones pour être transportés à travers les membranes cellulaires.

Ces hormones, bien qu'elles entraînent des variations métaboliques rapides dans les tissus, n'ont pour ainsi dire pas d'effet sur l'activité métabolique des homogénats cellulaires.

V- ACTION EN RELATION AVEC LE TAUX D'AMP CYCLIQUE:

Le fait d'avoir constaté que les hormones peuvent augmenter ou diminuer la quantité d'AMP cyclique suivant les tissus envisagés et que ce nucléotide, s'il est présent en grande quantité, remplit les fonctions de l'hormone ayant entraîné son augmentation, permet de penser que ces dernières agissent en provoquant les variations du taux de l'AMP cyclique.

Cet AMP contrôle aussi la libération de certaines hormones et de plus, il intervient dans un grand nombre d'autres processus métaboliques tels que néoglycogénèse, stéroïdogénèse, céto-génèse, lipolyse, antidiurèse.

Notons enfin, que les cinq mécanismes sont intimement liés entre eux et de cette interdépendance naît la difficulté d'établir l'action primordiale d'une hormone donnée.

RESUME ET CONCLUSIONS GENERALES

Nous avons consacré nos recherches à l'examen de l'activité leucine aminopeptidasique présente dans les ovaires de rattes pubères après des traitements de 7 , 14 et 21 jours consécutifs à l'éthinyl-oestradiol, la norgestriénone et l'association de ces deux composés.

Nous avons rappelé dans la partie bibliographique les activités enzymatiques connues jusqu'à ce jour dans les ovaires et nous avons donné un essai de classification des anticonceptionnels actuellement spécialisés dans le monde entier. Précisons toutefois que cette classification ne prétend pas être complète en raison des nombreuses difficultés que nous avons eues pour obtenir les compositions chimiques exactes de ces diverses "pilules" .

Quant à leur mécanisme d' action envisagé dans le chapitre suivant, il donne lieu à de nombreuses hypothèses que nous nous sommes efforcée de rappeler de façon coordonnée.

Enfin, nous abordons ensuite toutes les modifications pouvant être provoquées par la prise d'anticonceptionnels, modifications pouvant varier avec la nature du produit utilisé, avec l'individu et avec le temps du traitement réalisé.

Au cours de nos expériences, nous avons noté une légère perte de poils chez nos animaux, une diminution de la croissance pondérale et une involution très nette des ovaires.

Au sujet de la diminution de la croissance pondérale de nos animaux, c'est l'oestrogène, c'est-à-dire l'éthinyl-oestradiol qui semble avoir la plus forte action sur les animaux. En effet, le pourcentage de diminution de poids après 14 jours de traitement à l'éthinyl-oestradiol s'élève à 12,4% alors qu'il est de 10,4% après 14 jours de traitement à

la norgestriénone (le progestatif) et de 4,4% après un traitement de même durée à l'association (oestrogène plus progestatif) .

En ce qui concerne les gonades femelles, c'est sous l'influence de l'association qu'elles sont soumises à la plus forte diminution, le maximum de cette action se faisant sentir après 14 jours de traitement, puisque le pourcentage de diminution de poids des ovaires atteint alors 35,2% alors qu'il est de 25,8% après 7 jours de traitement et de 16 % après 21 jours.

De même, ce pourcentage de diminution après traitement à l'éthinyl-oestradiol est maximum après 14 jours de traitement puisque de 15,2% après 7 jours , il passe à 23,1% après 14 jours et à 7,3% après 21 jours de traitement.

Au contraire, l'action de la norgestriénone est maximum après 7 jours de traitement ainsi que le prouvent nos chiffres trouvés pour les pourcentages de diminution qui sont de 17,8% après 7 jours, de 12,5% après 14 jours et de 13,4% après 21 jours de traitement. Nous pouvons même préciser dans le cas précis de la norgestriénone, qu'il s'opère une stabilisation après 14 jours de traitement, puisque les moyennes comparées entre témoins et traités de 14 et 21 jours ne présentent pas de différence significative (test de STUDENT) .

Au point de vue expérimental encore, nous avons fait ressortir les incidences du blocage de l'ovulation tant par l'éthinyl-oestradiol que par la norgestriénone et leur association sur l'activité leucine aminopeptidasique de l'ovaire de ratte pubère, ceci afin d'approfondir l'étude de la variation de cette enzyme sous l'influence d'une thérapeutique anticonceptionnelle mettant au repos pendant 7 , 14 et 21 jours l'ensemble des fonctions ovariennes tant exocrines qu'endocrines.

D'une façon générale, nous pouvons dire que nous avons constaté après blocage de l'ovulation, une variation de l'activité leucine aminopeptidasique de même sens, quelle que soit la nature du produit antiovulatoire utilisé pour le traitement. En effet, cette activité enzymatique diminue toujours, bien que de façon plus ou moins accentuée, suivant l'emploi de l'oestrogène, du progestatif ou de leur association et aussi suivant le temps du traitement.

Les analyses de variance et les tests de STUDENT effectués nous permettent de penser , en ce qui concerne l'oestrogène, que ce dernier agit tout au long du traitement d'une façon régulière et continue. Et en effet, les pourcentages d'activité calculés pour une dilution au 1/500 et un temps d'incubation de 60 minutes sont de 8,2% après 7 jours de traitement,

de 16,4% après 14 jours et de 25,3% après 21 jours.

Le progestatif pourrait n'avoir lui, aucune action sur l'activité enzymatique, ce qui semble confirmé par le pourcentage de diminution d'activité qui, de 8,2% après 7 jours de traitement, passe à 9% après 14 jours et à 10,8% après 21 jours, les différences observées entre chaque traitement n'étant pas reconnues statistiquement significatives.

Quant à l'association des deux composés, son action serait beaucoup plus efficace, du point de vue dépression enzymatique, pendant les 7 premiers jours que celle de l'oestrogène, mais par la suite, cette action se stabiliserait et la poursuite du traitement ne semble pas apporter d'autres modifications enzymatiques appréciables. Ainsi nous trouvons un pourcentage de diminution de 21,1% après 7 jours de traitement; ce pourcentage s'élève ensuite plus modérément puisqu'il passe à 24,4% après 14 jours de traitement puis il diminue pour atteindre 14,8% après 21 jours de traitement. Mais nous devons spécifier que les variations observées après les 7 premiers jours de traitement ne sont pas forcément significatives. C'est ce que nous ont prouvé les analyses de variance effectuées sur nos chiffres d'activité enzymatique exprimés en μ moles de substrat métabolisé.

En terminant, nous exprimons le voeu que ce travail qui a fait appel à 187 animaux et dans le cas de la seule activité leucine aminopeptidase, puisse un jour être repris sur une échelle plus vaste, avec des méthodes moins artisanales et contribue ainsi à l'éclaircissement des problèmes posés par la mise au repos de l'ovaire dans l'espèce humaine par des procédés médicamenteux.

Vu, Clermont-Ferrand le 8 juin 1970

Clermont-Ferrand le 8 juin 1970

Le Président du Jury

G. DASTUGUE

Vu et Permis d' Imprimer

N° Ph 5/70

Clermont-Ferrand le 8 juin 1970

Le Doyen de la Faculté mixte de

Médecine et Pharmacie

G. MEYNIEL

BIBLIOGRAPHIE

- I- ADAMS E., SMITH E.L.- Proteolytic activity of pituitary extracts
J.Biol.Chem.,1951, 191, pp. 651-664.
- 2- Ad hoc advisory committee for the evaluation of a possible etiologic relation with thromboembolic conditions,final report on ENOVID, federal drug administration . 1963.in RYAN G.M.,CRAIG J.,REID D.E. 1964 (277) .
- 3- ADLERCREUTZ H.,IKONEN E.- Oral contraceptives and liver damage
Brit.Med.J.,1964, 2, n° 5417, pp.1133
- 4- ALESSANDRESCU D.,TEODORU Gh.C.- Données concernant la contraception hormonale et le curetage utérin,Gazette Médicale de France, 1968, 75, n°26, pp. 5003-5008.
- 5- ALLEN , HISAW 1939 in NETTER A.,PELISSIER Cl. 1966 (221,222).
- 6- ANDREWS W.C., ANDREWS M.C.- The use of progestins for oral contraception. South.Med.J. 1962, 55, pp. 454.
- 7- APOSTOLAKIS M.,BECKER H.,VOIGT K.D.- The effect of lynestrenol administration on testosterone,estrogen,pregnandiol and total gonadotrophin excretion during the menstrual cycle. Steroids. 1966, 7 ,pp. 146.
- 8- AUDEBERT A.,DALLA PRIA S.,GREENBLATT R.B.- Les deux types de pilule anticonceptionnelle. Gazette Médicale de France, 1968, 75, n°26, pp. 4965-4974.
- 9- AURELL M.,CRAMER K.,RYBO G.- Serum lipids and lipoproteins during long-term administration of an oral contraceptive. The Lancet, 1966, I, n°7432, pp. 291-293.
- IO- BAKER W.,KELLEY R.,cf ROSOFF C.B.,in PINCUS G.,VOLLMER E.P.-Biological activities of steroids in relation to cancer. New York, Academic Press 1960 pp.363.
- II- BALATTI J.J.,CLARET A.,ROSNER J.H.-A direct effect of anti-ovulatory compounds on human testicular biosynthesis in vitro. Fertil. and Steril. 1967, 18, pp. 367 .
- I2- BALL J.,HARTMAN C.G.- A case of delayed ovulation after estrin administration in the intact monkey. Proc. Soc.Exp.Biol.Mèd.1939, 40, pp. 629-631.

- I3- BASTIDE P.- Etude critique et expérimentale des activités enzymatiques dans l'humeur aqueuse et le corps vitré. Thèse Doct.Etat Médecine, Clermont-Ferrand 1961.
- I4- BASTIDE P.,BAUDON J.,MEUNIER S.,DASTUGUE G.- Activité leucine aminopeptidasique dans le placenta,le sang maternel,et celui du nouveau-né. Ann.Biol.Clin. 1961, 19, pp. 459-462.
- I5- BASTIDE P.,TRONCHE P.,MEUNIER M.Th.,BALLADE Ch.,DASTUGUE G.- Activités enzymatiques au niveau de l'humeur aqueuse et du corps vitré chez les Bovidés (LAP,Transaminases,PHI,Aldolase) . Toulouse pharmaceutique, 1961, 8, n° 1-2, pp. 96-104.
- I6- BAULIEU E.E.- Les principales modalités biologiques et chimiques de la contraception chez la femme. Gazette Médicale de France, 1968,75, n°26,pp. 4931-4947.
- I7- BEACONSFIELD P.,GINSBURG J.- Oral contraceptives and cell replication. The Lancet, 1968, i, pp. 592.
- I8- BEECHAM C.T.,MOLTHAN L.,BOUTWELL J. et al.- Amniotic fluid studies in Rh-sensitized women: A preliminary report. Amer.J.Obstet.Gynec. 1962, 83, pp. 1053-1057.
- I9- BELL E.T.,HERBST A.L.,MARIAMMA KRISHNAMURTI,et al.- The effect of long-term administration of oral contraceptives on excretion values for FSH and LH. Acta Endocr,1967, 54, pp. 96.
- 20- BENGT K.- Serum leucine aminopeptidase in icterus of the newborn. Acta Paediatr.1964, 53, pp. 158-164.
- 21- BISHOP P.M.F.,HILL H.- Oral contraceptives and cell replication. The Lancet,1968, i, pp. 693.
- 22- BOCKNER V.-The contraceptive pill:a clinical evaluation of its long-term use. Med.J.Australia, 1963, 50, pp. 809-812.
- 23- BONHOMME J.,LEMAIRE J.-Etude clinique d'une nouvelle association oestro-progestative. Vie Méd. 1967, 48, pp. 1851-1864.
- 24- BOUE J.G.,BOUE A.,LAZAR P.- Les aberrations chromosomiques dans les avortements,Ann. de génétique,1967, 10, n° 4, pp. 179-187.
- 25- BOUE 1968,in GAUTIER M. 1968 (99).
- 26- BOWMAN R.-Some clinical experience in the oral control of conception. Med.J.Australia,1962, I, pp. 715.

- 27- BRATTON A.C., MARSHALL E.K.- New coupling component for sulfanilamide determination. J.Biol.Chem. 1939, 128, pp. 537-550.
- 28- BREIBART S., BONGIOVANNI A.M., EBERLEIN W.R.- Progestins and skeletal maturation. New Eng.J.Med., 1963, 268, pp. 255.
- 29- BRENNER W.E., HENDRICKS Ch.- Effect of medroxyprogesterone acetate upon the duration and characteristics of human gestation and labor. Amer. J.Obstet.Gynec., 1962, 83, pp. 1094-1098.
- 30- BROWN J.B., FOTHERBY K., LORAINE J.A.- The effect of 17 α ethinyl 19 Nor-testosterone (norethisterone) on the urinary excretion of oestrogens, pregnanediol and gonadotrophins during the menstrual cycle. Proc.Roy. Soc.Med., 1960, 53, pp. 431.
- 31- BROWN J.B., MATTHEW G.D.- The application of urinary estrogen measurements to problems in gynecology. Recent Progr.in hormone res. U.S.A. 1962, 18, pp. 337-385.
- 32- BROWN P.S., BILLEWICZ W.Z.- The response of immature mice to mixtures of gonadotrophins. J.Endocr., 1962, 24, pp. 65-75.
- 33- BROWN J.B., FOTHERBY K., LORAINE J.A.- The effect of norethisterone and its acetate on ovarian and pituitary function during the menstrual cycle. J.Endocr., 1962, 25, pp. 331-341.
- 34- BRYCE G.F., RABIN B.R.- Fonction de l'ion métal dans la LAP et le mécanisme d'action de l'enzyme. Biochem.J.Londres, 1954, 90, pp. 449-655.
- 35- BUCHHOLZ R., NOCKE L., NOCKE W.- The influence of gestagens on the urinary excretion of pituitary gonadotropins, estrogens and pregnandiol in women in the postmenopause and during the menstrual cycle. Internat.J.Fertil. 1964, 9, pp. 231-251.
- 36- BUCK C.E., HENDERSON P.H.- The histopathology and cytopathology of cervical leukoplakia. Obstet.Gynec., 1963, 21, pp. 279.
- 37- CAILLARD C., DAUCHY F., HERREMAN G.- Contraceptifs oraux: Mode d'action et tolérance clinique. Gazette Médicale de France 1968, 75, n° 26, pp. 4949-4960.
- 38- CAROLI J., CHEVREL B., RAUTUREAU M., et al. - A propos des anomalies biologiques et histologiques hépatiques liées aux contraceptifs oraux. Path.Biol., 1968, 16, n° 21-22, pp. 935-942.
- 39- CARR D.H.- Chromosome anomalies as a cause of spontaneous abortion. Amer.J.Obstet.Gynec., 1967, 97, pp. 283.

- 40- CARR D.H.- Chromosome after oral contraceptives. The Lancet, 1967, ii, pp. 830.
- 41- CARRUTHERS G.B.- Newer oral contraceptives. Brit.Med.J. 1965, n° 5441, pp. 1048.
- 42- CERBONNET G.- Les progestatifs de synthèse dans le traitement des cancers génitaux féminins. Revue du praticien, 1968, 18, n° 27, pp. 3895-3903.
- 43- CHANG M.C.- Capacitation of rabbit spermatozoa in the uterus with special reference to the reproductive phase of the female. Endocr. 1958, 63, pp. 619.
- 44- CHANG M.C.- Transport of eggs from fallopian tube to the uterus as a function of oestrogen. Nature, 1966, 212, pp. 1048.
- 45- CHEVALLIER G.- Mode d'action et effets biologiques des stéroïdes inhibiteurs de l'ovulation. Press.Méd., 1967, 75, n° 11, pp. 533-538.
- 46- CHOLLET P.- A propos du transport sanguin des hormones thyroïdiennes. Thèse Doct.Méd. Clermont-Ferrand, 1969.
- 47- CLAUBERG C.- Zur physiologie und pathologie der sexual hormone in hesonderen des hormons des corpus luteum; der biologische test fur das luteohormon am infantilen kaninchen. Zentr.Gynaköl., 1930, 54, pp. 2757-2770.
- 48- COHEN J.- Bilan des effets biologiques et cliniques des inhibiteurs de l'ovulation utilisés en administration prolongée aux Etats Unis. Rev. Méd., 1965, 6, pp. 993-1008.
- 49- COOK H.H., GAMBLE C.J., SATTERTHWAITE A.P.- Oral contraception by norethynodrel, a three year field study. Amer.J.Obstet.Gynec., 1961, 82, pp. 437.
- 50- COPPOLA J.A., LEONARDI R.G., RINGLER I.- Reversal of the effects anti-oestrogens and norethynodrel on gonadotrophin induced ovulation in rats. J.Reprod.Fertil., 1966, 11, pp. 65.
- 51- CRAMER K.- Cholesterol and phospholipid content of human β lipoprotein in different lipemic states and following myocardial infarction. J.Atheroscler.Res., 1961, 1, pp. 317-334.
- 52- CRAMER K.- Serum β -lipoprotein lipids and protein during combined administration of dioxidiethylstilbestrol and methyl testosterone. Acta Med.Scand., 1962, 171, pp. 429-434.
- 53- CULLBERG G., LUNDSTROM R., STENRAM U.- Jaundice during treatment with an oral contraceptive, LYNDIOL. Brit.Med.J., 1965, 1, pp. 695-697.

- 54- CURTIS E.M.- Oral contraceptive feminization of a normal male infant: report of a case. Obstet.Gynec., 1964, 23, pp. 295-296.
- 55- DANNENBERG A.M., SMITH E.L.- Proteolytic enzymes of lung. J.Biol.Chem., 1955, 215, pp. 45-54.
- 56- DARGENT M., MOMMATAU E., SERVONNAT F.- Résultats du traitement par la noréthindrone (NORLUTEN) des cancers du sein en phase de diffusion. Bull.Ac.nle de Med., 1968, CLII, pp. 163.
- 57- DASTUGUE G., JACQUEMET L., BASTIDE P., SIMON E., PLAT P.M.- A propos de quelques enzymes plaquettaires dans l'espèce humaine. 8è Cong.Soc. Europ.Hématol. Vienne, 1961.
- 58- DASTUGUE G., BASTIDE P., CHEVALIER M.C.- De quelques activités enzymatiques de différents hémolysats en fonction de la dilution. C.R. des séances de la Soc.Biol., 1962, 153, n° 4, pp. 648.
- 59- DASTUGUE G., BALLADE Ch., BASTIDE P.- Activités LAP, LDH, PHI de la rétine chez les bovidés. C.R.Soc.Biol., 1963, 157, n° 3, pp. 540-543.
- 60- DEKKER C.A., TAYLOR S.P., FRUTON J.S.- Synthesis of peptides of methionine and their cleavage by proteolytic enzymes. J.Biol.Chem., 1949, 180, pp. 155-173.
- 61- DICKEY R.P., DORR C.H.- Oral contraceptives: selection of the proper pill. Obstet.Gynec., 1969, 38, pp. 273-287.
- 62- DICKINSON J.H., SMITH G.G.- A new and practical oral contraceptive agent: Norethindrone with mestranol. Canad.Med.A.J., 1963, 89, pp. 242.
- 63- DICZFALUSY E.- Research on steroids. Il Pensiero Scientifico. Rome. 1966 pp. 389.
- 64- DICZFALUSY E.- Mode of action of contraceptive drugs. Amer.J.Obstet. Gynec., 1968, 100, n° 1, pp. 136-163.
- 65- DODDS E.C.- Proceedings of the society for endocrinology. J.Endocr., 1962, 23, proc.i-xi.
- 66- DODEK O.I., KOTZ H.L.- Syndrome of ovulation following the oral contraception. Amer.J.Obstet.Gynec., 1967, 98, pp. 1065-1070.
- 67- DRILL V.A., SAUNDERS F.J.- Biological activity of norethynodrel. Proc. of a symposium on 19-Nor Progestational Steroids. Chicago. Searle Research Laboratories, 1957, pp. 5
- 68- DRILL V.A., RIEGEL B.- Structural and hormonal activity of some new steroids. Recent Progr.Hormone Res., 1958, 14, pp. 29-76.

- 69- DRILL V.A.- The experimental control of fertility by steroidal substances. Proc. of the Sixth International Conference on Planned Parenthood.India.1959,pp.167.
- 70- DRILL V.A.- Contraceptive effect of oral progestins: Properties of SC II800, a new oral inhibition. Proc.of the Seventh International Conference on Planned Parenthood.Singapore.1963.Excerpta Medica Inter.Congress series n°72, pp. 427.
- 71- DRILL V.A.- Endocrine properties and long-term safety of oral contraceptives. Metabolism.Clin.Exp.,1965, 14, n°3, pp. 295-340.
- 72- DRILL V.A.- Oral contraceptives. Mc Graw. Hill Book Company,1966,pp,212.
- 73- ECKSTEIN P.,MANDL A.M.- Effect of norethynodrel on the ovarian response of the immature rat to gonadotrophic stimulation. Endocr.,1962,71,pp.964.
- 74- EDGREN R.A.-The uterine growth-stimulating activities of norethynodrel and nortestosterone. Endocr.,1958, 62, pp. 689-693.
- 75- EDGREN R.A.,CARTER D.L.-in HOLMES R.L.,MANDL A.M. 1962 (138).
- 76- EDGREN R.A.,JONES R.C.,PETERSON D.L.- A biological classification of progestional agents. Fertil.Steril.,1967, 18, pp. 238.
- 77- EGEBERG O.,OWREN P.A.- Oral contraception and blood coagulability. Brit.med.J., 1963. I, pp.220.
- 78- EISALO A.,JARVINEN P.A.,LUUKKAINEN T.- Hepatic impairment during the intake of contraceptive pills: clinical trial with postmenopausal women. Brit.Med.J.,1964, 2, pp. 426-427.
- 79- EMMENS C.W.,COX R.I.,MARTIN L.- Oestrogen inhibition by steroids and other substances. J.Endocr.,1960, 20, pp. 198-209.
- 80- ENZYME NOMENCLATURE-- Recommendations 1964 of the International Union of Biochemistry. Elsevier publishing company, Amsterdam, London,N.Y.1965.
- 81- EPSTEIN J.A.,KUPPERMAN H.S.,CUTLER A.- Comparative pharmacological and clinical activity of I9 nortestosterone and I7 hydroxyprogesterone derivatives in man. Ann. N.Y. Acad.Sci.,1968, 71, pp. 560.
- 82- ERB Von H.,LUDWIG K.S.- Corpus luteum-bildung während einnahme eines hormonalen antikonzeptivums. Gynaecologia, 1965, 159, pp. 309-315.
- 83- FERIN J.,CHARLES J.,ROMMELAERT G. et al.- Ovarian inhibition during ~~lactation~~ Inter.J.Fertil.,1964, 9, pp. 41-43.

- 84- FLEISHER G.A., PANKOW M., WARMKA C.-LAP in human serum. Comparison of hydrolysis of L-leucylglycine and L-leucyl- β -naphthylamide. Clin.Chim. Acta.Pays Bas, 1964, 9, n° 3, pp. 259-268.
- 85- FLOWERS C.E., VORYS N., STEVENS V. et al.-The effect of suppression of menstruation with ethynodiol diacetate upon the pituitary, ovary and endometrium. Amer.J.Obstet.Gynec., 1966, 96, pp.784.
- 86- FOLK J.E., BURSTONE M.S.- Chromogenic leucyl substrates for aminopeptidases and papain. Proc.Soc.Exper.Biol.Med., 1955, 89, pp. 473-476.
- 87- FRICK H.C., ATCHOO N., ADAMSONS K. et al.- The efficacy of chemotherapeutic agents in the management of disseminated gynecologic cancer. Amer.J.Obstet.Gynec., 1965, 93, pp. III2-II2I.
- 88- FROMENT G.- Traitement par les progestagènes de synthèse des tumeurs cancéreuses du corps de l'utérus et de la glande mammaire chez la femme. Thèse Doct. Med. Paris, 1968.
- 89- FRUTON J.S., IRVING G.W., BERGMANN M.- Proteolytic enzymes of animal tissues. Composite nature of beef spleen cathepsin. J.Biol.Chem., 1941, 138, pp. 249-262.
- 90- FRUTON J.S.- Proteolytic enzymes of animal tissues. Peptidases of skin, lung and serum. J.Biol.Chem., 1946, 166, pp. 721-738.
- 91- FRUTON J.S., SMITH V.A., DRISCOLL P.E.- Proteolytic enzymes of animal tissues. A peptidase of calf thymus. J.Biol.Chem., 1948, 173, pp. 457-469.
- 92- FUJII K., HASHIGUCHI A., KUMASAKA T. et al.-The ovulation-inhibiting action of Sophia. Nippon Funin Gakkai Zasshi, 1965, 10, pp. 135-150.
- 93- FURMAN R.H., HOWARD R.P., CONRAD L.L.-
Amer.J.Med., 1954, 16, pp. 599.
- 94- FURMAN R.H., HOWARD R.P., NORCIA L.N. et al.-The influence of androgens, estrogens and related steroids on serum lipids and lipoproteins. Amer. J.Med., 1958, 24, pp. 80-97.
- 95- GARCIA C., PINCUS G.-Synthetic progestins in the normal human menstrual cycle. Recent Progr.Hormone Res., 1957, 13, pp. 323.
- 96- GARCIA C.R., PINCUS G., ROCK J.-Effects of three 19 nor-steroids on human ovulation and menstruation. Amer.J.Obstet.Gynec., 1958, 75, pp. 82.

- 97- GARCIA C.R.-Clinical studies on Human Fertility Control. (non publié),1963.
in MEARS E. 1965(197)
- 98- GARDNER J.N.,GNOJ O.,WATNICK A.S. et al.-New contraceptives agents
with high activity in rats.Steroids,1964, 4, n° 6, pp. 801-813.
- 99- GAUTIER M.- Conséquences génétiques possibles de la contraception par
voie orale.Gaz.Med.France, 1968, 75, n° 26, pp.5041-5042.
- 100- GELLER S.-A.B.C. des statistiques,1967. Masson et Cie Editeurs.pp. 120.
- 101- GELLER S.- Etude biochimique du blocage de la fonction ovarienne par le
diacétate d'éthynodiol. Path.Biol.,1968, 16, n° 5-6, pp. 347-352.
- 102- GENNSER G.- Spermagglutinins and contraceptives. The Lancet,1965,
n° 7410, pp. 491-492.
- 103- GERSHBERG U.,JAVIER Z.C.,HULSE M.- Glucose tolerance in women receiving
an ovulatory suppressant.Diabetes, 1964, 13, pp. 378.
- 104- GHNASSIA J.P.,MAUVAIS-JARVIS P.- Mode d'action des stéroïdes anti-
ovulatoires. Rev.Med.,1968, 27, pp. 1733-1743.
- 105- GOLDBARG J.A.,RUTENBURG A.M.- The colorimetric determination of LAP in
urine and serum of normal subjects and patients with cancer and other
diseases. Cancer, 1958, 11, pp. 283-291.
- 106- GOLDBARG J.A., PINEDA E.P.,RUTENBURG A.M.-The measurement of activity
of LAP in serum, urine, bile and tissues.Amer.J.Clin.Path., 1959,
32, pp. 571.
- 107- GOLDFARB A.F.,GONGSAKDI D.G.-The use of norethynodrel in certain
reproductive problems. West.J.Surg.Obstet.Gynec.,1961, 69, pp. 92.
- 108- GOLDZIEHER J.W.,HENKIN A.E.,HAMBLEN E.C.-Characteristics of normal
menstrual cycle. Amer.J.Obstet.Gynec.,1947,44, pp. 668.
- 109- GOLDZIEHER J.W.,MOSES L.E., ELLIS L.T.- Study of norethindrone in
contraception.JAMA, 1962, 180, pp. 359.
- 110- GOLDZIEHER J.W.,RICE-WRAY E.,SCHULZ-CONTRERAS M. et al.- Fertility
following termination of contraception with norethindrone. Amer.J.
Obstet.Gynec.,1962, 84, pp. 1474.
- 111- GOLDZIEHER J.W.,MARTINEZ-MANAUTOU J.,LIVINGSTON N.B. et al.- The use
of sequential estrogen and progestin to inhibit fertility. West.J.
Surg.Obstet.Gynec., 1963, 71, pp. 187-190.
- 112- GOLDZIEHER J.W.,LIVINGSTON N.B., MARTINEZ-MANAUTOU J.- The use of
sequential estrogens and progestin to inhibit fertility. Proc. of the
7th conference of the IPPF.Singapore.1963, n° 72, pp. 325-327.

- II3- GOLDZIEHER J.W.-Newer drugs in oral contraception. Med.Clin.N.Amer., 1964, 48, pp. 529-545.
- II4- GOLDZIEHER J.W.,BECERRA C.,GUAL C. et al.-New oral contraceptive. Sequential estrogen and progestin.Amer.J.Obstet.Gynec.,1964, 90, n° 3, pp. 404-411.
- II5- GRAHAM R.C.,NOBLE R.L.- Comparison of in vitro activity of various species of Lithospermum and other plants to inactivate gonadotropin. Endocr., 1955, 56, pp. 239-247.
- II6- GRANT E.C.-Relation of arterioles in the endometrium to headache from oral conceptives.The Lancet, 1965, 29, pp.II43-II44.
- II7- GRASSET J.,GAUTHIER R.-Essais thérapeutiques de deux I9-norstéroïdes: noréthindrone et noréthynodrel. Press.Med., 1962, 70, n° I, pp. 9-12.
- II8- GREEN M.N.,TSOU K.C.,BRESSLER R. et al.-The colorimetric determination of LAP activity with L-leucyl- β naphthylamide,HCl. Arch.Biochem.Biophysic. 1955, 57, pp. 458.
- II9- GREENWALD G.S.-Mechanism by which norethynodrel and ethynyl-oestradiol inhibit ovulation in the hamster.Acta Endocr., 1964, 47, pp. 10.
- I20- GREENWALD G.S.-The effect of a single injection of diethylstilboestrol or progesterone on the hamster ovary.J.Endocr., 1965, 33, pp. 13.
- I21- GREENWALD G.S.- Anti-ovulatory potency of various steroids determined by single injection into female hamsters.J.Endocr., 1965, 33, pp.25.
- I22- GRUMBACH M.M.,DUCHARME J.R.-The effects of androgens on fetal sexual development.Fertil.Steril., 1960, II, pp. 157.
- I23- GUEGUEN J.-Le test d'induction-inhibition de l'ovulation.Son application à l'étude de l'éthinyl-oestradiol,la chlormadinone et la noréthindrone. Gynec.Obstet.,1965, 64, pp. 627.
- I24- GUEGUEN J.- Description d'une nouvelle méthode d'inhibition ovarienne, la méthode séquentielle.Rev.Franc.Gynec.Obstet.,1967, 62, n° 6, pp.279-286.
- I25- GUEGUEN J.-Mode d'emploi de la "pilule".Gaz.Med.France,1968,75, n° 26, pp. 5021-5038.
- I26- GUSBERG S.-Precursors of corpus cancer adenomatus hyperplasia as stage carcinoma of the endometrium.Amer.J.Obstet.Gynec.,1963, 87, pp. 667.
- I27- HALLER J.-Research on steroids.Il Pensiero scientifico.Rome.1966,pp.379.

- I28- HAMMERSTEIN J.- The influence of continously administered chlormadinone acetate at low dosages on hormonal excretion during the menstrual cycle in three heatly women.Acta Endocr.,1967, suppl.II9, pp. I45.
- I29- HARPER M.J.K.-J.Endocr.,1962. in HOLMES R.L. et MANDL A.M.1962 (I39)
- I30- HAUS L.W.,GOLDZIEHER J.W.,HAMBLEN E.C. et al.-Dysmenorrhea and ovulation: correlation of the effect of estrogen therapy on pain,the endometrium and the basal body temperature.Amer.J.Obstet.Gynec.,1947, 54, n°5,pp.820-828.
- I31- HELLER C.G.-Proc.of a Symposium on 19-Nor-Progestational steroids,Chicago. 1957,Searle Res.Laboratories. pp. 97.
- I32- HERTZ R.,CRAMER J.K.,YOUNG J.P. et al.-Observations on the effect of progesterone on carcinoma of the cervix.J.Nat.Cancer Inst.,1951, II,pp.867.
- I33- HERTZ et al. 1954. in NETTER A.,PELISSIER Cl.1966 (22I)
- I34- HERVET E.,BARRAT J.-Indications médicales de la contraception. Rev.Prat., 1967, I7, n° 9, pp. I24I-I252.
- I35- HILLER R.I.-Norethindrone in the treatment of cancer.J.Abdom.Surg., 1960, 2, pp. I9.
- I36- HILLIARD J.,HAYWARD J.N.,CROXATTO H.B. et al.-Norethindrone blockade of pituitary gonadotrophin release, counteraction by estrogen.Endocr., 1966, 78, pp. I5I.
- I37- HOLLANDER C.S.,GARCIA A.M.,STURGIS S.H. et al.-Effect of an ovulatory suppressant on the serum protein-bound iodine and the red-cell uptake of radioactive triiodothyronine.New.Eng.J.Med.,1963, 269, pp. 50I.
- I38- HOLMES R.L.,MANDL A.M.- The effect of norethynodrel on the ovaries and pituitary gland of adult female rats.J.Endocr.,1962, 24, pp. 497-5I4.
- I39- HOLMES R.L.,MANDL A.M.- Oral contraceptives an assessment of their mode of action. The Lancet, 1962,i, pp. II74-II78.
- I40- HOLMSTROM E.G.- The long-term use of Ovulen for contraception.Metabolism Clin.Exp.,1965, I4, n° 3, pp. 444-445
- I4I- HOOD B.,CRAMER K.- Effects on serum lipoprotein cholesterol of estrogen in combination with androst-4-enedione testosterone and methyltestosterone. Acta Med.Scand.,1959 , I65 , pp.459-466.
- I42- HUTCHERSON W.P.,SCHWARTZ H.A.,SMITH L.-Norethindrone with estrogen as an oral contraceptive. South.M.J., 1963, 56, pp. I357.
- I43- HUTCHERSON W.P.,SCHWARTZ H.A.,WEATHRES U.-Long-term study of oral contraception with Norethindrone 2 mg and mestranol 0,I mg.Fertil.Steril., 1966, I7, n°I , pp. 59-67.

- I44- ISHIDA K.- Nippon Naibampi Gakkai Zasshi., 1965 , 40, pp. I345-I357.
- I45- JACKSON M.H.- Observations on the use of certain orally active progestogens for the control of fertility in women.Proc.Roy.Soc.Med., 1961, 54, pp. 984-987.
- I46- JACOBSON B.D.-Hazards of norethindrone therapy during pregnancy.Amer.J. Obstet.Gynec., 1962, 84, pp. 962.
- I47- JOHANNISSON E.,TILLINGER K.G.,DICZFALUSY E.- Effect of oral contraceptives on the ovarian reaction to human gonadotropins in amenorrheic women. Fertil.Steril.,1965, 16, pp. 292.
- I48- JONADET M.-Contribution à l'étude critique et expérimentale des activités enzymatiques de la cornée.Thèse Doct.Etat Pharmacie.Clermont-Ferrand.1967.
- I49- KANEMATSU S.,SAWYER C.H.-Blockade of ovulation in rabbits by hypothalamic implants of norethindrone.Endocr.,1965, 76, pp. 691.
- I50- KAR A.B.,CHANDRA H.-Effect of some progestational steroids on the response of the ovary of prepuberal rhesus monkeys to exogenous gonadotrophin. Steroids, 1965 , 6, pp. 463.
- I51- KING T.O.,LUBANSKY J.-Prolonged toxicity studies of a norethindrone-estrogen combination in rats.Pharmacologist., 1962, 4, pp.I76.
- I52- KIRCHHOFF H.- Bilan actuel de la contraception hormonale. Gaz.Med. France, 1968, 75 , n° 26, pp. 5011-5019.
- I53- KIRCHHOFF H.,HALLER J. 1963, in KIRCHHOFF H.1968 (I52).
- I54- KISTNER R.W.-Histological effects of progestins on hypoplasia and carcinoma in situ of the endometrium. Cancer, 1959, 12, pp. 1106.
- I55- KISTNER R.W.-The use of steroidal substances in endometriosis. Clin.Pharm.Therapeutics, 1960, I, pp. 525.
- I56- KLOPPER A.-Advertisement and classification of oral contraceptives. Brit.Med.J., 1965, n° 5467 , pp. 932-933.
- I57- KONIG P.A.- Uber die lokalisation von enzymen in den endokrinen formationen des menschliden ovarium. Gynaec., 1965, 159, pp. 107-124.
- I58- KRAHENBUHL C.,DESAULLES P.A.- The action of sex hormones on gonadotrophin induced ovulation in hypophysectomized prepuberal rats.Acta Endocr., 1964, 47, pp. 457.
- I59- KUPPERMAN H.S., EPSTEIN J.A.-Proc.of a Symposium on I9-Nor-Progestational steroids.Chicago.1957,Searle Res. Laboratories. pp. 32.
- I60- LAKSHMAN A.B.,NELSON W.O.- Rebound effect of ovulation-inhibiting steroids in rats. Nature, 1963 , 199, pp. 608.

- I61- LAPLANE R.,GEORGES-JANET L.-Le risque foetal des traitements endocri-
niens. Press.Med., 1968, 76, n° 17, pp. 785.
- I62- LARSSON-COHN U.L.F.- Oral contraception and liver function tests.
Brit.Med.J.,1965, I , pp. 1414-1415.
- I63- LARSSON-COHN U.- The 2 hour BSP retention test and the transaminase
activity during oral contraceptive therapy.Amer.J.Obstet.Gynec.,
1967, 98, pp. 188.
- I64 LARSSON-COHN U.,STENRAM U.-Liver ultrastructure and function in icteric
and non-icteric women using oral contraceptive agents.Acta Med.Scand.,
1967, 181, pp. 257.
- I65- LATNER A.L.- Isoenzymes. Advanc.Clin.Chem.,1967 , 9, pp. 69-163.
- I66- LAUWERYS J., FERIN J.-Effects on the ovary of prolonged administration
of lynestrenol : a histological study. Int.J.Fertil.,1964, 9, pp.35-39.
- I67- LEBHERZ T.B.,FOBES C.D.-Management of endometriosis with nor-progesterone.
Amer.J.Obstet.Gynec., 1961, 81, pp. 102.
- I68- LEHFELDT 1963. in MOREL H. 1965 (206).
- I69- LEWIN I.,SPENCER H.,HERRMANN J.Jr.- Clinical and metabolic effects of
17- α -ethinyl-19-nortestosterone in mammary cancer.Proc.Am.Cancer Res.,
1959, 3, pp. 37.
- I70- LICHTFUS C.,PUNDEL J.P.,GANDAR P.- Le frottis vaginal à la fin de la
grossesse.Bul.Fed.Soc.Gynec.Obstet.,1957,9, n° 4 bis, pp. 644-650.
- I71- LINDERSTROM-LANG K.- Uber darmerepsin.Ztschr.f.Physiol.Chem., 1929, 182,
pp. 151-174.
- I72- LINTHORST G.-Liver function after long-term progestational treatment
with and without oestrogen.Brit.Med.J.,1964 , 2, n° 5414, pp. 920-921.
- I73- LORAIN J.A.,BELL E.T.,HARKNESS R.A. et al.-Oral progestational agents:
effects of long-term administration on hormone excretion in normally
menstruating women. The Lancet, 1963 , 2 , pp. 902-905.
- I74- LORAIN J.A.- Some observations on the effect of antiovolatory compounds
or hormone excretion in human subjects.Int.J.Fertil.,1964 , 9, pp. 155.
- I75- LORAIN J.A.,BELL E.T.,HARKNESS R.A. et al.- Hormone excretion patterns
during and after the long-term administration of oral contraceptives.
Acta Endocr.,1965, 50, pp. 15-24.
- I76- LUMBROSO M.P.,ALBEAUX-FERNET M.,NETTER A. et al.-Problèmes posés par l'
usage des progestatifs de synthèse dans le contrôle de la fécondité.
Press.Med., 1965, 73, n° 52 , pp. 3007-3010.

- I77- LUMBROSO M.P.-Problèmes posés par l'usage des progestatifs de synthèse dans le contrôle de la fertilité. Med.Prat., 1966, 22, n°279, pp.49-50.
- I78- LUNENFELD B.,SULIMOVICI S.,RABAU E.-Preliminary report on the mechanism of action of anti-ovulatory compounds. J.Endocr., 1962, 24, pp. 31-32.
- I79- LUNENFELD B.,SULIMOVICI S.,RABAU E.-Mechanism of action of anti-ovulatory compounds. J.Clin.Endocr., 1963, 23, pp.391.
- I80- LUNENFELD B.-The ovarian response to exogenous human gonadotropins alone and during simultaneous administration of progestogens. Int.J.Fertil., 1964, 9, pp. 167-174.
- I81- MAC CORMICK W.G.,CARLBORG L.,GEMZELL C.-Urinary FSH and LH excretion following combined treatment with norethisterone acetate and ethinyl-oestradiol and norethisterone acetate only. Acta Endocr., 1968, 57, pp. 536.
- I82- MAC GINTY D.A.,DJERASSI C.-Some chemical and biological properties of 19-nor-17 α -ethynyltestosterone. Ann.N.Y.Acad.Sci., 1958, 71, pp.500-515.
- I83- MAQUEO M.,PEREZ-VEGA E.,GOLDZIEHER J.W. et al.-Comparison of the endometrial activity of 3 synthetic progestins used in fertility control. Amer.J. Obstet.Gynec., 1963, 85, pp. 427.
- I84- MAQUEO-TAPETE M.,RICE-WRAY E.-Research on steroids. Il Pensiero Scientifico. Rome. 1966. pp. 463.
- I85- MARTINEZ-MANAUTOU J.,CORTEZ V.,AZNAR R. et al.-Low doses of progestogen as an approach to fertility control. Fertil.Steril., 1966, 17, pp. 49.
- I86- MARTINEZ-MANAUTOU J.,GINER-VELASQUEZ J.,CORTES-GALLEGOS V. et al.-Daily progestogen for contraception : a clinical study. Brit.Med.J., 1967, 2, pp. 730.
- I87- MARTINI L.,FRASCHINI F.- Research on steroids. Il Pensiero Scientifico. Rome. 1966. pp. 371.
- I88- MATSUMOTO S.,ITO T.,INOUE S.-Untersuchung der ovulations-hemmenden Wirkung von 19-Nor Steriden an laparotomierten patientinnen. Geburtsh. u.Frauenheilk, 1960, 20, pp. 250.
- I89- MATSUNAGA E.I.-Possible genetic consequences of family planning. JAMA, 1966, 198, n° 5, pp. 533-541.
- I90- MAUVAIS-JARVIS P.- Etudes in vivo sur le métabolisme des androgènes après administration de stéroïdes inhibiteurs de l'ovulation. Acta Endocr., 1966, 54, pp. 37.
- I91- MAUVAIS-JARVIS P.-Gonadotrophines hypophysaires et contrôle de l'ovulation. Press.Med., 1967, 75, pp. 225.

- I92- MAUVAIS-JARVIS P.,BERCOVICI J.P.-Biogénèse des stéroïdes ovariens.
Press.Med., 1968, 76, n° 12, pp. 571-574.
- I93- MAUVAIS-JARVIS P.,DE LIGNIERES B.,BERCOVICI J.P.-Les dangers de la
contraception orale par les stéroïdes oestroprogestatifs.Press.Med.,
1969, 77 , n° 41, pp. 1419-1422.
- I94- MAZZEI PLANAS G.,KUC J.-Contraceptive properties of stevia ribandiana.
Science, 1968, 162, pp. 1007.
- I95- MEARS E.,GRANT E.C.G.-Anovlar as an oral contraceptive. Brit.Med.J.,
1962, 2, pp. 75.
- I96- MEARS E.-A new type of oral contraceptive.Brit.Med.J.,1963, 1, pp.1318-1320
- I97- MEARS E.-The mode of action of oral contraceptives. The Eugenics
Review,1965, 56, n° 4, pp. 195-202.
- I98- MEARS E.-Handbook on oral contraception.I.P.P.F.1965,London .
J. and A. Churchill .
- I99- MEARS E.-Contraception orale.Gaz.Med.France,1968, 75, n°26, pp.4979-4990.
- 200- MILLONIG R.C.- Isolation of an aminopeptidase from type B Clostridium
botulinum. J.Bact., 1956 , 72 , pp. 301-307.
- 201- MISHELL D.R.-Effect of 6 α -methyl-17 α hydroxyprogesterone on urinary
excretion of luteinizing hormone.J.Obstet.Gynec., 1967, 99, pp. 86.
- 202- MOGHISSI K.S.- Cyclical changes of cervical mucus proteins. Int.J.
Fertil.,1966, II , pp. 284.
- 203- MOGHISSI K.S.,NEUHAUS O.W.- Cyclic changes of cervical mucus proteins.
Amer.J.Obstet.Gynec., 1966, 96, pp. 91.
- 204- MONITEUR DES PHARMACIES. 1969, n° 882, pp. 1333.
- 205- MONITEUR DES PHARMACIES. 1969, n° 903, pp. 2269.
- 206- MOREL H.- Les méthodes de la contraception. Press.Med.,1965, 73, n° 28,
pp. 1631-1636.
- 207- MORRIS J.A.- Physiological control of conception with norethynodrel.
Amer.J.Obstet.Gynec., 1961, 82, pp. 428.
- 208- MORRIS J.M., Van WAGENEN G.-Post-coital oral contraception.Eighth Int.
conference of the I.P.P.F.Santiago.Chile, 1967.
- 209- MULLER P.- Inconvénients de l'usage prolongé des progestogènes.St LUC ,
1965, n° 4 , pp. 185-193.

- 210- MUNSHI S.R.-Effect of norethynodrel in mice and rats.J.Reprod.Fertil., 1963, 5, pp.287.
- 211- N...-Current Practice.Oral contraceptives.Brit.Med.J.,1963, 2, pp.550-551.
- 212- N...-Newer oral contraceptives.Brit.Med.J.,1965, I, n° 5435, pp. 640.
- 213- NACHLAS M.M.,CRAWFORD D.T.,SELIGMAN A.M.- The histochemical demonstration of LAP. J.Histochem.Cytochem.,1957, 5 , pp. 264-278.
- 214- NACHLAS M.M.,GOLDSTEIN T.P.,SELIGMAN A.M.-An evaluation of aminopeptidase activity with seven chromogenic substrates.Arch.Biochem.Biophys., 1962, 97 , pp. 223-231.
- 215- NAG N.C.,PAIN A.K.- Trans,Bose Res. Inst., 1935, II, pp. 91.
- 216- NAG N.C.,PAIN A.K.- Trans,Bose Res. Inst., 1936, I2, pp. 59.
- 217- NAKAGAWA S.,TSUJI H.-Electrophoretic separation of LAP and leucyl- β -naphtylamide,Clin.Chim.Acta, 1964, IO, n° 6, pp. 572-573.
- 218- NATHAN J.K.- La contraception hormonale en France. Gaz.Med.France, 1968, 75, n° 26, pp. 4993-5000.
- 219- NAYSMITH J.H.- Oral contraceptives and coronary thrombosis,Brit.Med.J., 1965, I, pp. 250.
- 220- NELSON W.O.,PATANELLI D.J.-Inhibitory effects of steroids on gonadotrophin secretion in the male rat. Acta Endocr.,1960, suppl.5I, pp. 905.
- 221- NETTER A.,PELISSIER Cl.- Effets physiologiques des oestrogènes sur la fonction ovarienne.Press.Med., 1966, 74, n° 22, pp. II29-II30.
- 222- NETTER A.,PELISSIER Cl.- Etude de la suppression de l'ovulation par le mestranol. C.R.Soc.Franc.Gynec., 1966, 36, n° I, pp. 35-38.
- 223- NETTER A.,LAMBERT A.,YANEVA H, et al.-Etude d'un nouveau progestatif de synthèse, la norgestriénone. Rev.Franc.Endocr.Clin., 1967, 8, pp.231-240.
- 224- NEVINNY-STICKEL J.-Inhibition of ovulation determined by estimation of pregnandiol excretion.Int.J.Fertil. ,1964, 9, pp. II-I6.
- 225- NOMINE G.,BUCOURT R.,TESSIER J., et al.-Agencements stéroïdes triéniques et activité progestative.C.R.Acad.Sci.Paris, 1965, 260, pp. 4545-4548.
- 226- NUTTING E.E.,SOLLMAN P.B.-Delay of implantation in intact rats treated with progestins. Acta Endocr., 1967, 54, pp. 8.
- 227- ODEBLAD E.- Micro NMR in high permanent magnetic fields.Acta Obstet.Gynec. Scand., 1966, suppl.2, 45.
- 228- OLIVER M.F.,BOYD G.S.-Effect of estrogens on plasma lipids in coronary artery disease.Amer. Heart.J.,1954, 47, pp. 348-359.

- 229- OLIVER M.F.,BOYD G.S.- Influence of sex hormones on circulating lipids and lipoproteins in coronary sclerosis.Circulation, 1956, 13, pp. 82-91
- 230- O.M.S.-Aspects cliniques de l'utilisation des gestagènes oraux.Gaz.des. Hôpitaux,1966; n° 27, pp. 1243-1264.
- 231- OSTERGAARD E.- Inhibition of ovulation observed at laparotomy in patients treated with D.M.A.P. Int.J.Fertil., 1964, 9, pp. 25.
- 232- OSTERGAARD E.,AREND S J.,HAMBURGER C. et al.- Postponement of menses, suppression of urinary gonadotrophins I7-KGS and I7-CS in normal women treated with a megestrol acetate/mestranol combination from day 20 of the cycle. Acta Endocr.,1966 , 53, pp. 13.
- 233- OSTERGAARD E.,STARUP J.- Occurence and function of corpora lutea during different forms of oral contraception. Acta Endocr.,1968, 57, pp. 386.
- 234- OVERBEEK G.A.,MADJEREK Z.,DE VISSER J.- The effect of lynestrenol on animal reproduction. Acta Endocr., 1962, 41, pp. 351-370.
- 235- OVERBEEK G.A.,DE VISSER J.- Different modes of action of two antioviulatory compounds. Acta Endocr., 1964, suppl. 90, pp. 179.
- 236- PALVA J.P.,MUSTALA O.O.- Oral contraceptives and liver damage. Brit. Med.J.,1964, 2 , pp. 688-689.
- 237- PEETERS F.,Van ROY M.,OEYEN H.- (Suppression of ovulation by progestagens). Geburtsh.Frauenheilk., 1960, 20, pp. 1306-1314.
- 238- PEETERS F.- Inhibition hormonale de l'ovulation.Scalpel, 1964, 117, n° 51 , pp. 1067-1071.
- 239- PINCUS G.,KIRSCH R.E.-Sterility in rabbits produced by injections of oestrone and related compounds.Amer.J.Physiol.,1936, 115, pp. 219-228.
- 240- PINCUS G.- Some effects of progesterone and related compounds upon reproduction and early development in mammals.Proc.Fifth Int.Conference on Planned Parenthood.Tokyo.1955, pp. 175-185.
- 241- PINCUS G.,CHANG M.C.,ZARROW M.X. et al.-Endocr., 1956, 59, pp. 695.
- 242- PINCUS G.- Long-term administration of Enovid to human subjects.Proc. of a Symposium on I9-Nor Progestational steroids.Chicago, Searle Res. Laboratories.1957, pp. 105.
- 243- PINCUS G.,ROCK J.,GARCIA C.R. et al.-Fertility control with oral medications.Amer.J.Obstet.Gynec., 1958, 75, pp. 1333.
- 244- PINCUS G.,ROCK J.,GARCIA C.R.- Effects of certain I9-norsteroids upon reproductive processes.Ann.N.Y.Acad.Sci.,1958, 71, pp. 677.

- 245- PINCUS G., GARCIA C.R., ROCK J. et al.-Effectiveness of an oral contraceptive. Science, 1959, 130, pp. 81-83
- 246- PINCUS G.-Suppression of ovulation with reference to oral contraceptives. Modern Trends in Endocr. Sec. Ser. New-York, P.B. Hoeber. 1961, pp. 231.
- 247- PINCUS G., MERRIL A.P.- Control of ovulation .C.A.Villee, Pergamon Press, Oxford. 1961, pp. 37
- 248- PINCUS G., GARCIA C.R., PANIAGUA M. et al.- Ethynodiol acetate as a new , highly potent oral inhibition of ovulation. Science, 1962, 138, pp. 439-440.
- 249- PINCUS G.- The control of fertility. New-York and London. Academic Press. 1965, pp. 276.
- 250- PINCUS G.- Long-term use of oral contraceptives. Science, 1966, 152, n° 3722, pp. 676.
- 251- PLATE W.P.- Ovarian changes after long-term oral contraception. Acta Endocr. 1967, 55, pp. 71.
- 252- PLAZONNET M.P.-Contribution critique et expérimentale à l'étude des variations de quelques activités enzymatiques de l'ovaire de ratte pubère à l'état normal et sous l'influence d'une médication oestrogénique ou progestative. Thèse Doct. Pharm. Clermont-Ferrand. 1968.
- 253- PUJOL-AMAT P., URGELL-ROCA J., ESTEBAN-ALTIRRIBA J. et al.-Studies of ovarian biopsies from women cyclically treated with the combination ethynodiol diacetate and mestranol. Acta Endocr., 1967, Suppl. 119, pp. 151.
- 254- PURSHOTTAM N., MASON M.M., PINCUS G.- Induced ovulation in the mouse and the measurement of its inhibition. Fertil. Steril., 1961, 12, pp. 346-352.
- 255- RAHLMANN D.F., CUPPS P.P.- Effects of oestradiol and dehydroepiandrosterone on the reproductive cycle of the cow. J. Dairy Sci, 1962, 45, n°8, pp. 1011-14
- 256- RANKIN R.P.-Prolonged anovulation subsequent to oral progestins. Amer. J. Obstet. Gynec., 1969, 103, pp. 919-922.
- 257- RAPPAPORT S.I.- Proc. I.P.P.F. Appendix V. (conference London). 1962.
- 258- RAVINA J.H.- Traitement hormonal "sequentiel" en gynécologie. Press. Med., 1965, 73, n° 32, pp. 1870.
- 259- RAVINA J.H.- Aspects cliniques de l'utilisation des gestagènes oraux. Press. Med., 1966, 74, n° 38, pp. 1949.
- 260- RICE-WRAY E., SCHULZ-CONTRERAS M., GUERRERO I. et al.- Long-term administration of norethindrone in fertility control. JAMA, 1962, 180, n°5, pp. 355-358

- 261- RICE-WRAY E.,GOLDZIEHER J.W.,ARANDA-ROSELL A.- Oral progestins in fertility control. Fertil.Steril., 1963, 14, pp. 402.
- 262- RICE-WRAY E.,ARANDA-ROSELL A.,MAQUEO M. et al.- Comparison of the long-term endometrial effects of synthetic progestins used in fertility control. Amer.J.Obstet.Gynec., 1963, 87, pp. 429.
- 263- RICE-WRAY E.- Oral contraceptive and liver damage.Brit.Med.J., 1964, 2, pp. 1011.
- 264- RICE-WRAY E.,CERVANTES A.,GUTIERREZ J. et al.- The acceptability of oral progestins in fertility control. Metabolism Clin.Exp.,1965, 14, pp.451-456.
- 265- RINGROSE C.A.D.- Current concepts in conception control.Canad.M.A.J., 1963 , 89, pp. 246.
- 266- RIVA H.L.,KAWASAKI D.M.,MESSINGER A.J.- Further experience with norethynodrel in treatment of endometriosis.Obstet.Gynec., 1962, 19, pp. III.
- 267- ROBBINS J., RALL J.E.-The iodine containing hormones. Hormones in blood. Ed. Gray et Bacharach.Academic Press.Londres et New-york.1967,pp.383-490.
- 268- ROCK J.,PINCUS G.,GARCIA C.R.- Effect of certain 19-norsteroids on the human menstrual cycle.Science, 1956, 124, pp. 891.
- 269- ROCK J.-Inhibition of ovulation in the human. Control of ovulation,C.A. Villee.Pergamon Press.Oxford. 1961, pp. 222.
- 270- ROLAND M.,CLYMAN M.J.,DECKER A. et al.-Sequential endometrial alterations during one cycle of treatment with synthetic progestagen-estrogen compounds. Fertil.Steril., 1966, 17, pp. 338.
- 271- ROSEMBERG E.,ENGEL I.-The influence of steroids on urinary gonadotropin excretion in a postmenopausal woman. J.Clin.Endocr., 1960, 20, pp.1576-1586.
- 272- ROZENBAUM H.,NETTER A.- Incidents et accidents de l'emploi prolongé des contraceptifs oraux.Rev.Prat., 1969, 19, n° 15, pp. 2317-2324.
- 273- RUDEL H.W.,MARTINEZ-MANAUTOU J.,MAQUEO-TOPETE M.- The role of progestogens in the hormonal control of fertility. Fertil.Steril., 1965, 16,pp. 158.
- 274- RUDEL H.W., KINCL F.A.- The biology of antifertility steroids.Acta Endocr., 1966, 51, Suppl.105 , pp. I-45.
- 275- RUDEL H.W.,LEBHERZ T.,MAQUEO-TOPETE M.et al.- Assay of the anti-oestrogenic effects of progestagens in women. J.Reprod.Fertil., 1967, 13, pp. 199.
- 276- RUSS E.M.,EDER H.A.,BARR D.P.- Influence of gonadal hormones on protein-lipid relationships in human plasma.Amer.J.Med., 1955, 19, pp. 4-24.

- 277- RYAN G.M., CRAIG J., REID D.E.- Histology of the uterus and ovaries after long-term cyclic norethynodrel therapy. Amer.J.Obstet.Gynec., 1964, 90, n° 6 , pp. 715-725.
- 278- RYAN G.M., GOSS D.A., REID D.E.- Pituitary gonadotropins during long-term Enovid therapy. Amer.J.Obstet.Gynec., 1966, 94, pp. 515-517.
- 279- SANYAL S.N.- Ten years of research on an oral contraceptive from *Pisum sativum* . Science and culture, 1960, 25, pp. 661-665.
- 280- SATTERTHWAITE A.P., GAMBLE C.J.- Conception control with norethynodrel. J.A.M.A., 1962 , 17 , pp. 797.
- 281- SAUNDERS F.J., EDGREEN R.A., DRILL V.A.- The progestational activity of norethynodrel. Endocr., 1957, 60, pp. 804-805.
- 282- SAUNDERS F.J.- The effects of several steroids on fecundity in female rats. Endocr., 1958 , 63, pp. 561.
- 283- SAUNDERS F.J.- Effects of oestrone on the response to testosterone propionate in castrated male rats. Endocr., 1958, 63, pp. 498-500.
- 284- SAUNDERS F.J., DRILL V.A.- Some biological activities of 17-ethynyl and 17-alkyl derivatives of 17 hydroxyestrenones. Ann.N.Y.Acad.Sci., 1968, 71, pp. 516.
- 285- SAUNDERS F.J.- Some notes on the mode of action of norethynodrel in preventing fertility in rats. Acta Endocr., 1964, 46, pp. 157.
- 286- SAUNDERS F.J.- Effects of steroids on pituitary gonadotropin and fertility. Recent Progr. Hormone Res., 1964, 20, pp. 395.
- 287- SCHMIDT-ELMENDORFF M., KAISER E., KOPERA H.- The effect of 0,5 mg lynestrenol with and without 0,1 mg mestranol on the FSH, LH, oestrogen and pregnanediol excretion during the menstrual cycle. Acta Endocr., 1967, Suppl. 119 , pp. 152.
- 288- SCHOBEL B., WEUJALKA F.- L'hétérogénéité de la LAP. Klin.Wschr., 1962, 40 , n° 20, pp. 1048-1056.
- 289- SHAH P.N.- Proc. of the Seminar on Modern Contraceptive Devices. B.N. Purandare .Bombay. 1965.
- 290- SHAH P.N.- Low dosage oral ethynodiol diacetate tablets for long-term contraception in Indian women. Brit.Med.J., 1966, 2, pp. 1431-1434.
- 291- SHEARMAN R.P.- Excretion of ovarian steroids in patients treated with an ovulation inhibitor. The Lancet, 1963, I, pp. 197-200.
- 292- SHEARMAN R.P.- Effects of the long-term use of ovulation inhibitors on the excretion of ovarian steroids. J.Reprod.Fertil., 1963, 5, pp. 457.

- 293- SHEARMAN R.P.- Amenorrhoea after treatment with oral contraceptives. The Lancet, 1966 , n° 2 , pp. III0-III1.
- 294- SHEARMAN R.P.- Investigation and treatment of amenorrhea developing after treatment with oral contraceptives. The Lancet, 1968, I, pp. 325-326.
- 295- SMITH M.G.- On the interruption of pregnancy in the rat by the injection of ovarian follicular extract. Bull. Johns Hopk. Hosp., 1926, 39, pp. 203-214.
- 296- SMITH E.L.- Peptidases of skeletal, heart, and uterine muscle. J. Biol. Chem., 1948, 173, pp. 553-569.
- 297- SMITH E.L.- Proteolytic enzymes. The Enzymes, 1951, I, n° 2, pp. 810-814.
- 298- SMITH E.L., HILL R.L.- Leucine Aminopeptidase. The Enzymes, P.D. BOYER, H. LARDY, K. MYRBACK, Ac. Press. N.Y., 1960, 4, pp. 37-62.
- 299- SOIVA K., CASTREN O.- The conservative treatment of endometriose with lynestrenol. Ann. Chir. Gynaec. Fenn., 1963, 52, pp. 376.
- 300- SONKIN R., COUDEYRAS M.- Résultats obtenus par la noréthindrone à doses fortes dans le traitement de certains cancers génitaux à un stade avancé. Bull. Fed. Soc. Gynec. Obstet. Franç., 1966, 18, n° 4375, pp. 376.
- 301- SOTANIEMI E., KREUS K.E., SCHEININ T.M.- Oral contraception and liver damage. Brit. Med. J., 1964, 2, pp. 1264-1265.
- 302- STARUP J., ØSTERGAARD E.- The mechanism in inhibition of ovulation. Acta Endocr., 1966, 52, pp. 292.
- 303- STARUP J.- Excretion of gonadotrophins during gestagen and oestrogen treatment. Acta Endocr., 1967, 54, pp. 637.
- 304- STEVENS V.C., VORYS N., BESCH P.R. et al.- The effect of a new oral contraceptive on gonadotrophin excretion. Metabolism, 1965, 14, pp. 327.
- 305- STOLL B.A.- A new progestational steroid in the therapy of endometrial carcinoma. Cancer Chemotherap., 1961, 14, pp. 83.
- 306- STOLL B.A., ANDREWS J.T., MOTTERAM R. et al.- Oral contraceptives and liver damage. Brit. Med. J., 1965, I, pp. 723.
- 307- SUZUKI S., MASTROIANNI L.J.- In vitro fertilization of rabbit ova in tubal fluid. Amer. J. Obstet. Gynec., 1965, 93, pp. 465.
- 308- SWAAB L.I.- Oral contraceptive and liver damage. Brit. Med. J., 1964, 2, pp. 755.
- 309- SWAAB L.I.- A field trial with Lyndiol and Conovid. Int. J. Fertil., 1964, 9, pp. 107-110.

- 310- SWAAB L.I.- Enige resultaten bij de toepassing van orale ovulatieremmers. Ned.T.Geneesk., 1964, 108, n° 22 , pp. 1070-1076.
- 311- SWARTZ D.P.,WALTERS J.H.,FLUNKETT E.R. et al.-Clinical experience with a new oral contraceptive. Fertil.Steril.,1963, 14, pp. 320.
- 312- SWERDLOFF R.S.,ODELL W.D.- Serum luteinizing and follicle stimulating hormone levels during sequential and non-sequential contraceptive treatment of eugonadal women. J.Clin.Endocr.,1969, 29, pp. 157.
- 313- SWYER G.L.- Progestatifs de synthèse et régulation de la conception. Cah.Coll.Med.Hôp.Paris., 1964, 5, pp. 463-468.
- 313 bis-SWYER G.L.,LITTLE V.- Absence of hepatic impairment in long-term oral contraceptive users. Brit.Med.J., 1965, n° 5447, pp. 1412-1414.
- 314- TAKAKI N.K.,MATHEWS C.W.,SEMMENS J.P.- Indocyanine green liver function studies in women taking progestins. Obstet.Gynec., 1967, 30, pp. 220.
- 315- TALLAN H.H.,JONES M.E.,FRUTON J.S.- On proteolytic enzymes of animal tissues; beef, spleen cathepsin C. J.Biol.Chem., 1952, 194, pp. 793-805.
- 316- TAMOTSU MYAKE- The use of parabiotic mice for the study of pituitary gonadotrophin hypersecretion and its inhibition by steroids.Endocr., 1961, 69, pp. 547.
- 317- TAYMOR M.L.- Effect of synthetic progestens on pituitary gonadotrophin excretion.J.Clin.Endocr., 1964, 24, pp. 803.
- 318- TAYMOR M.L., RIZKALLAH T.- Effect of norethindrone acetate upon gonadotrophin induced ovarian function.J.Clin.Endocr., 1965, 25, pp. 843.
- 319- THIEBLOT L.,DEFFARGES C.,BLAISE S.- Régulation biologique de la conception. Rev. Med., 1963, n° 1, pp. 55-61.
- 320- THOYER-ROZAT J.,SENEZE J.,PIERRE R. et al.- Essais cliniques du norgestrel associé à l'éthinyl-oestradiol. Sem. Hôp.Paris, 1968, 44ème année , n° 48, pp. 2958-2962.
- 321- TOAFF R.,JEWELWICZ R.-Inhibition of lactogenesis by combined oral progestogens and oestrogens.The Lancet, 1963, 2, pp. 322-324.
- 322- TOTH F.,SZOENYI I.- Histochemical investigations on the organs of rats treated with norsteroids and progesterone, with particular reference to hydroxysteroid dehydrogenases. Z.Geburtsh.Gynnaëkol., 1966, 165, pp. 91-105.
- 323- TUCHMANN-DUPLESSIS H.-La tératogénèse expérimentale.Concours Médical, 1965, 87, n° 11, pp. 1828-1840.

- 324- TYLER E.T., OLSON H.J.- Fertility promoting and inhibiting effects of new steroid hormonal substances. J.A.M.A., 1959, 169, pp. 1843-1854.
- 325- TYLER E.T.- Current status of Los Angeles oral contraception studies. Appl. Ther., 1964, 6, pp. 507-511.
- 326- TYLER E.T.- Eight years' experience with oral contraception and an analysis of use of low-dosage Norethisterone. Brit. Med. J., 1964, 2, pp. 843-847.
- 327- TYLER E.T.- Current status of oral contraception. J.A.M.A., 1964, 187, pp. 562.
- 328- Van GANSEWINCKEL A., FERIN J.- Bull. Soc. Belge Gynecol. Obstet., 1958, 28, pp. 442.
- 329- VELLUZ L.- Les structures contraceptives. Ann. Pharm. Franç., 1967, 25, n° 1, pp. 69-80.
- 330- VILLEDIEU P., HAOUR P.- Etude clinique d'une association oestroprogestative. Vie Médicale/Actualité, 1967, n° 98, pp. 29-32.
- 331- VIROT G.- Cytologie extemporanée et frottis fixés dans les tests couplés de grossesse. C.R. Soc. Franç. Gynec., 1968, 38, n° 4, pp. 217-222.
- 332- VIROT G.- Colorations cytologiques par encres à stylo. Moniteur des Pharmacies, 1968, n° 832-833-834, pp. 1101.
- 333- VOKAER R.- Action des complexes stéroïdiens anti-ovulatoires sur certaines glandes endocrines et la crase sanguine. Rev. Med., 1965, 6ème année, n° 18, pp. 1009-1017.
- 334- VORYS N., ULLERY J.C., STEVENS V.- The effects of sex steroids on gonadotropins. Amer. J. Obstet. Gynec., 1965, 93, pp. 641-658.
- 335- WAJIMA T., TAKAHASHI H.- Agar-gel electrophoretic method for the determination of LAP, iso-enzymes as applied to serum and organ homogenates. Igaku To Seibutsugaku, 1964, 68, n° 2, pp. 101-103.
- 336- WAKELING A.- Effect of norethynodrel on spontaneous ovulation and fertilization in adult female rats. J. Reprod. Fertil., 1965, 10, pp. 1-7.
- 337- WALLACH S., HENNEMAN P.H.- Prolonged estrogen therapy in post-menopausal women. J. Am. Med. Ass., 1959, 171, pp. 1637.
- 338- WALSH F.B., CLARK D.B., THOMPSON R.S. et al.- Oral contraceptives and neuro-ophthalmologic interest. Arch. Ophthal., 1965, 74, pp. 628.
- 339- WATNICK A.S., GIBSON J., VINAGRA M., et al.- Ethynyl-estradiol : a potent orally active contraceptive in rats. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1964, 116, pp. 343-347.

- 340- WEISS B.- Peptidase and proteinase activity of beef, thyroid tissue.
J.Biol.Chem., 1953 , 205, pp. 193-203.
- 341- WILKINS L.- Masculinization of female fetus due to use of orally given
progestins. J.A.M.A., 1960, 172, pp. 1028-1032.
- 342- WILSON R.A.- The roles of estrogen and progesterone in breast and
genital cancer. J.A.M.A., 1962, 182, pp. 327-331.
- 343- ZANARTU J.- Effect of synthetic oral gestagens on cervical mucus and
sperm penetration. Int.J.Fertil., 1964, 9, pp. 225-230.
- 344- ZONDEK B.- The effect of prolonged administration of estrogen on the
uterus and the anterior pituitary of human beings.
- - -

TABLE DES MATIERES

<u>INTRODUCTION</u>	1
<u>PREMIERE PARTIE : RECHERCHES BIBLIOGRAPHIQUES</u>	4
CHAPITRE I : Historique.....	5
CHAPITRE II : Equipement enzymatique de l'ovaire, exposé analytique..	8
CHAPITRE III : Classification des anticonceptionnels	13
CHAPITRE IV : Modes d'action	19
CHAPITRE V : Effets secondaires	37
CHAPITRE VI : Traitements à long terme	43
<u>DEUXIEME PARTIE : RECHERCHES EXPERIMENTALES</u>	73
CHAPITRE I : Généralités	74
. Les différentes méthodes d'administration	
. Substances pharmacologiques expérimentées	
. Animaux et traitements	
. Préparations enzymatiques	
. Expression des résultats	
. Effets secondaires	
CHAPITRE II : Activité leucine aminopeptidasique.....	89
. Définition	
. Historique	
. Répartition	
. Spécificité	
. Inhibiteurs et accélérateurs	
. Hétérogénéité	
. Dosage	
. Résultats	

1- Après traitements de 7, 14 et 21 jours à l'éthinyl-	
oestradiol	93
Tableau des résultats	94
Tableau des intervalles de confiance	95
2- Après traitements de 7, 14 et 21 jours à la	
norgestriénone	97
Tableau des résultats	98
Tableau des intervalles de confiance	99
3- Après traitements de 7, 14 et 21 jours à	
l'association	100
Tableau des résultats	102
Tableau des intervalles de confiance	103
Courbe représentative de l'activité de la leucine	
aminopeptidase (courbe n° 2)	104
Courbe représentative du pourcentage de diminution	
d'activité (courbe n° 3)	105
Chapitre III : Esquisse d'interprétation	106
<u>RESUME ET CONCLUSIONS GENERALES</u>	109
<u>BIBLIOGRAPHIE</u>	I

